BIOCHEMISCHE UND PHYSIOLOGISCHE ANPASSUNGEN AN DAS LEBEN IM MARINEN SEDIMENT:

UNTERSUCHUNGEN AM SPRITZWURM SIPUNCULUS NUDUS L.

vorgelegt von
Hans-Otto Pörtner
aus Bünde
Düsseldorf 1982

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0005

Biochemische und physiologische Anpassungen an das Leben im marinen Sediment: Untersuchungen am Spritzwurm Sipunculus nudus L.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Hans-Otto Pörtner

aus Bünde

Düsseldorf 1982

UBN.
LIMBURG
RIJKS.

1. Berichterstatter: Professor Dr. M.K. Grieshaber
2. Berichterstatter: Professor Dr. K.-D. Spindler

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Februar 1983

dvv dissertations & skripten druck, coerdestraße 44, 4400 münster, 0251 / 20614

Herrn Prof. Dr. M.K. Grieshaber danke ich für die Anregung dieser Arbeit. Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. J. Piiper, der mir den Aufenthalt am Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin in Göttingen ermöglichte sowie Herrn Prof. Dr. N. Heisler, der mich in die Methoden der Atmungsphysiologie einführte.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	19
2.1.	Versuchstiere	19
2.2.	Untersuchungen zum Stoffwechsel	20
2.2.1.	Präparation der Tiere, Gewichtsverhältnisse	20
2.2.2.	Chemikalien	21
2.2.3.	Meßgeräte	21
2.2.4.	Quantitative Metabolitbestimmungen	22
2.2.5.	Bestimmung der Enzymaktivitäten	25
2.3.	Untersuchungen zur Atemphysiologie und zum Säure-Basen-Haushalt	29
2.3.1.	Vorbereitung der Tiere	29
2.3.2.	Bestimmung von Cl^- in Seewasser und Coelomflüssigkeit	30
2.3.3.	Bestimmung des Sauerstoffverbrauches in Abhängigkeit vom O_2-Partialdruck	30
2.3.4.	Bestimmung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit	32
2.3.5.	Bestimmung des O_2-Partialdruckes im Coelom in Abhängigkeit vom äußeren O_2-Partialdruck	33
2.3.6.	Bestimmung des intrazellulären pH (pH_i)	33
2.3.7.	Bestimmung des O_2-Gehaltes in der Coelomflüssigkeit, Sauerstoffbindungskurve	37
2.3.8.	Untersuchung der Pufferverhältnisse in Coelomflüssigkeit und Gewebe	40
2.3.9.	Vorläufige Bilanz: Anaerobiosestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt	45
2.4.	Beobachtungen zur Lebensweise, Aufzeichnung der Aktivität	51
2.4.1.	Photographie	51
2.4.2.	Druckmessungen	51
2.4.3.	Flußmessungen	52

Seite

2.5. Versuchsansätze 55
2.5.1. Untersuchungen unter Extrembedingungen: Anaerobiose 55
2.5.2. Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken 59
2.5.3. Untersuchungen unter simulierten natürlichen Bedingungen 59
3. Ergebnisse 63
3.1. Stoffwechsel unter Extrembedingungen: Anaerobiose 63
3.1.1. Veränderungen von Metabolitkonzentrationen während Anaerobiose im freien Wasser 63
3.1.2. Veränderungen von Metabolitkonzentrationen in Hautmuskelschlauch und Retraktoren während erschöpfender Grabtätigkeit 83
3.1.3. Aktivitäten von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in Hautmuskelschlauch und Retraktoren 87
3.2. Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von der Sauerstoffversorgung 94
3.2.1. Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren O_2-Partialdruck 94
3.2.2. Metabolitkonzentrationen in Hautmuskelschlauch und Retraktoren nach Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken 98
3.3. Zur quantitativen Rolle des Haemerythrins bei der Sauerstoffversorgung 109
3.3.1. O_2-Bindungskurve in vitro und in vivo 109
3.3.2. Abhängigkeit des O_2-Partialdruckes im Coelom vom äußeren P_{O_2} 113
3.4. Beobachtungen zur Lebensweise des *Sipunculus nudus* 118

Seite

3.4.1. Aktivitätsphasen 118
3.4.2. Erholungs- und Ruhephasen im Sand 124
3.5. Stoffwechsel und O_2-Versorgung unter simulierten natürlichen Bedingungen 129
3.6. Stoffwechsel und O_2-Versorgung bei Anaerobiose im freien Wasser und während der anschließenden Erholung 156
3.7. Anaerobiose und Säure-Basen-Haushalt 161
3.7.1. Puffervermögen in Coelomflüssigkeit und Hautmuskelschlauch 161
3.7.2. Anaerobiose im freien Wasser 166
3.7.3. Erholung nach Anaerobiose im freien Wasser 173
3.7.4. Anaerobiose und Säure-Basen-Haushalt in simulierten natürlichen Situationen 176
3.8. Vorläufige Bilanz: Anaerobiosestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt 194
4. Diskussion 203
4.1. Der anaerobe Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus* 204
4.1.1. Biotopbedingte Anaerobiose 204
4.1.2. Funktionsbedingte Anaerobiose 252
4.1.3. Gewebeunterschiede bei Anaerobiose 281
4.2. Ökophysiologische Fragestellung: Stoffwechsel und O_2-Versorgung im Biotop 299
4.2.1. O_2-Versorgung im Biotop: Das respiratorische System des Sipunculus nudus 302
4.2.2. Simulation einer funktionsbedingten Anaerobiose 312
4.2.3. Simulation einer biotopbedingten Anaerobiose 315

Seite

4.3. Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt unter wechselnden Bedingungen der O_2-Versorgung und bei Aktivität 324

4.3.1. Zu den Grundlagen einer quantitativen Analyse der pH-relevanten Veränderungen im Energiestoffwechsel 325

4.3.2. Zur Analyse der Parameter des Säure-Basen-Haushaltes 335

4.3.3. Stoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt im Experiment: 343

1. Qualitative und quantitative Betrachtung: Anaerobiose im freien Wasser 343

2. Erholung nach Anaerobiose im freien Wasser 351

3. Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt in simulierten natürlichen Situationen 353

4.3.4. Säure-Basen-Haushalt und Regulation des Anaerobiosestoffwechsels 365

5. Zusammenfassung 371

6. Literaturverzeichnis 376

Abkürzungen

Bic	Bicarbonat
DH	Dehydrogenase
DMO	5,5-Dimethyloxazolidin-2,4-dion
E.ch.	Energy charge
EDTA	Ethylendinitrilotetraessigsäure
FG	Frischgewicht
Hmr	Haemerythrin
NB	Nicht-Bicarbonat
Oct.	Octopin
P_{Bic}	Pufferung des Bicarbonates
P_{NB}	Pufferung der Nicht-Bicarbonatpuffer
PLA	Phospho-L-Arginin
Tra	Triäthanolamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan

1. Einleitung

Die Umwelt eines Lebewesens ist als Gesamtheit der Faktoren zu verstehen, die mit den Lebensäußerungen des betreffenden Organismus in direkter oder indirekter Weise in Beziehung stehen. Ein wesentlicher Faktor in der Umwelt der heterotroph lebenden tierischen Organismen ist der Sauerstoff, dessen Verwertung eine ökonomische Gewinnung der in der Nahrung enthaltenen Energie ermöglicht. Aus diesem Grunde hat sich wahrscheinlich während der Evolution ein vom Sauerstoff abhängiger Energiestoffwechsel durchgesetzt.

Sauerstoffmangel ist jedoch eine Situation, mit der viele Tiere oder zumindestens einzelne Gewebe im tierischen Körper zeitweise konfrontiert sein können. Es gibt wohl kaum einen vielzelligen Organismus, in dem nicht zumindest einzelne Zellen oder Gewebe die Potenz zu einem anaeroben Stoffwechsel haben. Man kann in diesem Zusammenhang zwischen einem äußeren, den gesamten Organismus betreffenden, umweltbedingten Sauerstoffmangel und einem gewebsspezifischen Sauerstoffmangel unterscheiden, der in der Regel durch den Organismus selbst verursacht wird.

Aufgrund von Untersuchungen an Invertebraten prägten Zebe et al. (1980) für das Leben mit diesen beiden Formen die Begriffe „biotopbedingte Anaerobiose" und „funktionsbedingte Anaerobiose". Biotopbedingte Anaerobiose bedeutet demnach einen „Sauerstoffmangel im Biotop, dem die Tiere nicht entkommen können". Diese Definition beinhaltet ein passives Überdauern von Sauerstoffmangelsitationen durch den gesamten Organismus. Erweitert man diese Definition um eine aktive Komponente, so hat man auch die Fälle erfaßt, in denen die Tiere sich z.B. tauchend (Hochachka et al., 1975; Ultsch und Jackson, 1982) oder grabend aktiv in ein sauerstoffarmes Medium begeben und dort verweilen. Eine solchermaßen erweiterte Auffassung stellt die Verbindung zur Definition einer funktionsbedingten Anaerobiose nach Zebe et al. (1980) her. Diese liegt vor, wenn bei exzessiver Muskelarbeit „der Energiebedarf die Kapazität der aeroben Energieproduktion weit übersteigt".

Dabei ist in die Überlegungen einzubeziehen, daß nicht nur die Ausstattung der Muskelgewebe mit Mitochondrien, sondern auch die Sauerstoffversorgung des Gewebes über die Körperflüssigkeit die Kapazität der aeroben Energieproduktion begrenzt.

Ein Defizit an Sauerstoff führt in jedem Fall zu einer Energieproduktion durch anaerobe Prozesse. ATP-Gewinnung ohne Sauerstoff kann Phosphorylierungen beinhalten, die einer oxidativen Phosphorylierung deshalb vergleichbar sind, weil Elektronen unter ATP-Gewinn auf terminale Akzeptoren übertragen werden. Sie kann außerdem Substratkettenphosphorylierungen und die Transphosphorylierung gespeicherter, energiereicher Phosphate, der Phosphagene, beinhalten.

Zu den Phosphorylierungsprozessen, die einer oxidativen Phosphorylierung vergleichbar sind, gehört der Elektronentransfer auf Fumarat, der schon bei Bakterien auftritt (Konings und Boonstra, 1977; Kröger, 1978) und auch bei Vertebraten und Invertebraten weit verbreitet ist. Eine Aktivität der Fumaratreduktase wurde unter anderem bei Parasiten (de Zoeten und Tipker, 1969), marinen Invertebraten (Hammen, 1969; Schroff und Schöttler, 1977; Holwerda und de Zwaan, 1979, 1980), Invertebraten des Süßwassers (Schöttler 1977a, b) und verschiedenen Geweben von Vertebraten nachgewiesen (s. u.a. Hammen, 1969a; Wilson und Cascarano, 1970).

Bei allen genannten Tiergruppen wurde in Übereinstimmung mit diesen Befunden während des Sauerstoffmangels eine Produktion von Succinat gefunden, die aus der Hydrierung der Doppelbindung des Fumarates in den Mitochondrien resultiert. Dies gilt für Parasiten (Saz, 1981; Fairbairn, 1970), marine Invertebraten (de Zwaan, 1977; Zebe et al., 1980), Invertebraten des Süßwassers (Schöttler und Schroff, 1976; Zebe, 1977; Zebe et al., 1981) und verschiedene Vertebraten (Hochachka und Somero, 1976; Fréminet, 1981; van den Thillart, 1982).

Eine weitere Möglichkeit des anaeroben Elektronentransfers

liegt bei Metazoen den Erörterungen von Zs.-Nagy (1977) zufolge darin, ungesättigte Fettsäuren als terminale Elektronenakzeptoren zu verwenden. Ein solcher Prozeß wurde als „anoxe endogene Oxidation" bei Mollusken nachgewiesen (Zs.-Nagy, 1977; Holwerda et al., 1981 b).

Eine ATP-Gewinnung, die sich allein auf Substratkettenphosphorylierung stützt, ist bereits seit langem aus der Verbindung von Laktatgärung und Muskelkontraktion bekannt. Die Biochemie der Muskelkontraktion wurde in ihrer geschichtlichen Entwicklung sehr anschaulich von Needham (1971) dargestellt. In den letzten Jahren konnte eine weite Verbreitung der anaeroben Glykolyse dadurch bestätigt werden, daß bei vielen Invertebraten anstelle von L-Laktat oder D-Laktat (Long, 1976) verschiedene Kondensationsprodukte des Pyruvates mit Aminosäuren (Opine nach Schell et al., 1979) gefunden wurden (s. Livingstone, 1982). Das Spektrum der Opine, die als Endprodukte der anaeroben Glykolyse bekannt sind, umfaßt bei Tieren Octopin (Grieshaber und Gäde, 1976; Gäde, 1980 a), Alanopin und Strombin (Fields et al., 1980; de Zwaan et al., 1981 c).

Weitere Substratkettenphosphorylierungen sind z.B. mit der bereits erwähnten Succinatgärung verbunden, einer Form der anaeroben Energiegewinnung, die bei Invertebraten nicht nur zur Akkumulation von Succinat, sondern auch von flüchtigen Fettsäuren führt. Bei marinen Invertebraten wurde *in vitro* nachgewiesen, daß die Produktion der Fettsäuren Propion- und Essigsäure mit einer ATP-Bildung verbunden ist (Schroff und Zebe, 1980; Schulz et al., 1981; Wienhausen, 1981; de Zwaan et al., 1981 b). Werden bei Anaerobiose auch Aminosäuren metabolisiert, so führt eine Produktion von Alanin, dessen C-Gerüst aus der Glykogenolyse stammt (Collicutt und Hochachka, 1977; Felbeck und Grieshaber, 1980; Felbeck, 1980; Schöttler, 1980; de Zwaan et al., 1982), ebenfalls zu einem ATP-Gewinn durch Substratkettenphosphorylierung. Ein Teil der C-Gerüste

des akkumulierten Alanins kann jedoch auch aus der Decarboxylierung von Aspartat stammen (de Zwaan et al., 1982; Zebe, 1975).

Die ATP-Gewinnung aus dem energiereichen Phosphagen stellt einen Mechanismus dar, der Änderungen der ATP-Konzentration frühzeitig auffängt (Wilson et al., 1981). Dies ist möglich, da die Reaktionen der zugehörigen Phosphagenkinasen nahe dem Gleichgewicht liegen (Beis und Newsholme, 1975). Die Funktion des Phosphagens beschränkt sich nach Meinung einiger Autoren jedoch nicht nur auf die Speicherung energiereichen Phosphates. Wilson et al. (1981) führen auch die hohe Diffusibilität eines in hoher Konzentration vorliegenden Phosphagens und der zugehörigen Aminosäure und damit einen schnellen Transport des energiereichen Phosphates von den Orten der Synthese zu den Orten des Verbrauchs an (s. auch Bessman et al., 1980). Diese Funktion würde eine Präsenz des Phosphagens auch im rein aerob arbeitenden Muskel und eine Präsenz der Creatinkinase in den Mitochondrien des Herzmuskels erklären (Jacobus und Lehninger, 1973; Kupriyanov et al., 1980). Newsholme et al. (1978a)modifizieren diese Hypothese dahingehend, daß das Phosphagen im Verein mit hochaktiven Phosphagenkinasen konstante Konzentrationen von ATP und ADP überall in der Muskelzelle garantiert. Storey (1976, 1977 a und 1981) sowie Wu et al. (1979) diskutieren einen direkten Einfluß des Phosphagens auf die Enzyme der Glykolyse und damit auf die Regulation des Glykolyseflusses. Nach Meinung der genannten Autoren soll eine Abnahme der Phosphagenkonzentration die Hemmung wichtiger Enzyme der Glykolyse aufheben. Davuluri et al. (1981) sehen im Phosphagen auch einen Speicher anorganischen Phosphates. Wie Wilson et al. (1981) betonen sie eine regulatorische Rolle des anorganischen Phosphates im Stoffwechsel. Eine erhöhte Konzentration des Phosphates ermöglicht eine erhöhte Stoffwechselrate (s.a. Erecinska et al., 1977). Eine regulatorische Beeinflussung der Glykogenphosphorylase durch anorganisches Phosphat wurde auch von Helmreich und Cori (1964) vorgeschlagen. Eine Rolle des Phosphagens bei der intrazellulären Puf-

ferung war bereits von Lipmann und Meyerhof (1930) erarbeitet worden.

Neben einer effektiven ATP-Produktion ist es im Stoffwechsel von Bedeutung, die energetische Verwertbarkeit des ATPs, d.h. den Konzentrationsunterschied zwischen ATP und ADP, aufrechtzuerhalten. Ein Parameter der Verwertbarkeit ist der Energieinhalt des Adenylatsystems (Energy charge, s. Atkinson und Walton, 1967; Atkinson, 1968), dessen numerischer Wert sich aus den Konzentrationen von ATP, ADP und AMP nach

$$E.ch. = [ATP] + 0{,}5[ADP] \;/\; [ATP] + [ADP] + [AMP]$$

errechnet. Kommt es z.B. bei Anaerobiose zu einem Nettoabbau von ATP, so bleibt das Konzentrationsverhältnis zwischen den Adenylaten durch die Reaktionen der Adenylatkinase und der AMP-Desaminase weitgehend konstant. Die Adenylatkinase regeneriert ATP aus ADP nach

$$2\ ADP \longrightarrow ATP + AMP.$$

Die AMP-Desaminase desaminiert akkumuliertes AMP nach

$$AMP \longrightarrow IMP + NH_3$$

und entzieht damit das AMP dem Reaktionsgleichgewicht der Adenylatkinase.

Zebe et al. (1980) nahmen eine Zuordnung der verschiedenen Gärungstypen zu den geschilderten Formen des Sauerstoffmangels vor. Demnach ist die anaerobe Glykolyse charakteristisch für die funktionsbedingte Anaerobiose. Sehr mobile Mollusken bilden als Endprodukt der Glykolyse Octopin (Livingstone, 1982). Die Succinatgärung, oft verbunden mit einer Synthese der flüchtigen Fettsäuren Acetat und Propionat, ist nach der Vorstellung von Zebe et al. der langfristigeren, biotopbedingten Anaerobiose zuzuordnen.

Geht man davon aus, daß unter beiden Formen des Sauerstoffmangels allein Glykogen als Substrat des Energiestoffwechsels dient - dies gilt für die Succinatgärung bei marinen Invertebraten in einer späten Phase der Anaerobiose (s.u.) -, so ist für die biotopbedingte Anaerobiose im Gegensatz zur funktions-

bedingten Anaerobiose ein niedrigerer Energiebedarf (de Zwaan und Wijsman, 1976; de Zwaan et al., 1981 a) und eine höhere ATP-Ausbeute pro Glykosyleinheit charakteristisch (Zebe et al., 1980; Zandee et al., 1980). Führt zum Beispiel die Octopinbildung nur zu einem ATP-Gewinn von 3 mol/mol Glykosyleinheiten, so kann die Propionatbildung eine ATP-Ausbeute von 7 mol/mol Glykosyleinheiten erzielen.

Glykogen ist das alleinige Substrat der anaeroben Glykolyse im Muskelgewebe. Für die Succinatgärung werden neben Glykogen auch freie Aminosäuren, insbesondere Aspartat, Glutamat und neuerdings auch Glutamin (Siegmund, 1982) als Substrate des Stoffwechsels diskutiert. Die Aminogruppe wird jedoch in der Regel auf glykogenolytisch gebildetes Pyruvat übertragen (vergl. Felbeck, 1980), so daß der Glykogenabbau in jedem Fall beteiligt ist. Insbesondere bei Vertebraten scheint der Umsatz von Aminosäuren auszureichen, das Ausmaß der Succinatgärung zu erklären (Hochachka et al., 1975; Taegtmeyer, 1978; Sanborn et al., 1979; Fréminet et al., 1980; Fréminet, 1981). Eine Akkumulation von Fettsäuren wurde bei Vertebraten bisher nicht beschrieben. Auch für das Herz der Auster *Crassostrea gigas* (Collicutt und Hochachka, 1977) sowie für den hinteren Adduktor von *Mytilus edulis* (im Winter, de Zwaan et al., 1982) wurde gefunden, daß eine freie Aminosäure, nämlich Aspartat, (im untersuchten Zeitraum) alleiniges Substrat der Succinatbildung ist.

Bei einigen Invertebraten reicht die umgesetzte Menge an freien Aminosäuren jedoch nicht aus, das Ausmaß der Succinatgärung zu erklären. Hier stammt demnach ein großer Teil der akkumulierten Endprodukte aus Glykogen (Simpson und Awapara, 1966; Stokes und Awapara, 1968; de Zwaan und van Marrewijk, 1973 a, Zebe, 1975)

Untersuchungen zum Aminosäurestoffwechsel (Felbeck und Grieshaber, 1980; Felbeck, 1980) und zur Anfangsphase einer biotopbedingten Anaerobiose bei *Arenicola marina* (Schöttler, 1982) führten zu einem Bild des Anaerobiosestoffwechsels, in dem bei diesem Invertebraten zwischen zwei Phasen der Anaerobiose unterschieden wird (s. Abb. 1). In der ersten Phase

der Anaerobiose dient Aspartat neben Glykogen als Substrat des Energiestoffwechsels. Mit dem Abbau von Aspartat ist eine Bildung von Alanin gekoppelt, dessen C-Gerüst aus der anaeroben Glykolyse oder aus der Decarboxylierung von Aspartat stammt (s.o.). Gebildetes NADH wird mit Hilfe der Malatdehydrogenase reoxidiert. Malat passiert die Mitochondrienmembran und unterliegt dort einer Disproportionierung, die zur Bildung von Succinat, Propionat und Acetat führt.

In der zweiten Phase der Anaerobiose wird Malat als Vorstufe von Succinat aus der Glycogenolyse angeliefert. Indikator für die vollzogene Umschaltung ist wahrscheinlich das Ende der Metabolisierung von Aspartat (vergl. Schöttler, 1982).

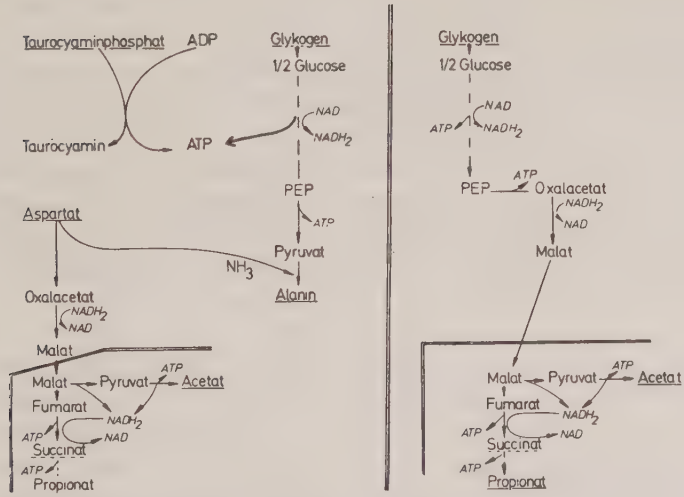


Abb. 1: Schematische Darstellung der Stoffwechselwege, die für die frühe Phase (links) und für die späte Phase (rechts) einer biotopbedingten Anaerobiose an Arenicola marina erarbeitet wurden (aus Schöttler, 1982)

Für die Bildung von Malat bzw. Succinat aus Glykogen muß eine Carboxylierungsreaktion angenommen werden, die innerhalb der normalen Glykogenolyse nicht auftritt. Seit den

frühen Untersuchungen über den Energiestoffwechsel fakultativer Anaerobier wird daher die Frage erörtert, wie die Tiere mit einsetzendem Sauerstoffmangel auf den anaeroben Energiestoffwechsel umschalten, der zur Bildung eines C_4-Körpers aus Glykogen führt (s. Hammen, 1966; Hochachka und Mustafa, 1972; Hochachka et al., 1973; de Zwaan, 1977). Diskutiert wird, ob die Umschaltung zur Carboxylierungsreaktion in der anaeroben Glykolyse auf der Stufe des Phosphoenolpyruvates (mit Hilfe der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase) oder auf der Stufe des Pyruvates (mit Hilfe des „Malat-Enzyms" = Malatdehydrogenase, NADP, decarboxylierend) erfolgt (s. Simpson und Awapara, 1966; Hammen, 1966). Untersuchungen der betroffenen Enzyme *in vitro* sprechen eher für eine Beteiligung der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase an der Umschaltung des Stoffwechsels (Mustafa und Hochachka, 1973 a,b; de Zwaan und van Marrewijk, 1973 b). Dem „Malat-Enzym" soll eine Rolle bei der Bildung von Pyruvat und schließlich von Acetat aus Malat zukommen (Hochachka und Mustafa, 1973; Zebe, 1977; Schöttler, 1977 b; Hoffmann et al., 1979; Wienhausen, 1981). Ein wesentlicher Beitrag zur Klärung dieses Problems wurde von Schöttler und Wienhausen (1981) geleistet, die durch Hemmung der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase *in vivo* eine Funktion des Enzyms bei der Succinatbildung sehr wahrscheinlich machen konnten (s. Abb. 1).

Ungeklärt ist die Frage nach den regulatorischen Parametern, die die Umschaltung des Stoffwechsels bewirken. Die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase und die Pyruvatkinase sind die Enzyme, die die beiden alternativen Umsetzungsrichtungen des Phosphoenolpyruvats katalysieren (s. Abb. 1). Aufgrund der Untersuchungen dieser Enzyme *in vitro* wird eine allosterische Wirkung von ITP, GTP, Alanin, Phosphoenolpyruvat, ATP und Fructose-1,6-bisphosphat auf die Enzyme derart diskutiert, daß bei andauernder Hypoxie die Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase gegenüber der Aktivität der Pyruvatkinase erhöht ist (Mustafa und Hochachka, 1971, 1973 b; de Zwaan und Holwerda, 1972; Livingstone und Bayne, 1974; de Zwaan, 1977). In jüngster Zeit kommen Überlegungen hinzu,

die einer Phosphorylierung und damit einer Hemmung der Pyruvatkinase eine wichtige regulatorische Rolle bei der Umschaltung des Stoffwechsels zuweisen (Siebenaller, 1979; Holwerda et al., 1981 a).

Eine Hypothese, die auch heute noch weitgehend akzeptiert ist, sieht im intrazellulären pH einen wesentlichen Faktor der Regulation des Energiestoffwechsels bei biotopbedingter Anaerobiose. Diese Hypothese beruht ebenfalls auf den Untersuchungen der entscheidenden Enzyme *in vitro*. Mustafa und Hochachka (1971, 1973,a,b) sowie de Zwaan und de Bont (1975) fanden bei Untersuchungen an den fakultativen Anaerobiern *Crassostrea gigas* und *Mytilus edulis* unterschiedliche pH-Optima der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase und der Pyruvatkinase. Diese Befunde ließen darauf schließen, daß ein Absinken des pH_i, wie es aufgrund der Anhäufung organischer Säuren zu erwarten ist, zu einer Hemmung der Pyruvatkinase und einer Aktivierung der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase führt und so die Umschaltung zur Carboxylierungsreaktion bewirkt. Abb. 2 zeigt die pH-Optimumskurven, wie sie von den genannten Autoren gefunden wurden. Die relativ geringe Differenz der pH-Optima bei *Mytilus edulis* ließ de Zwaan (1977) wie schon Livingstone und Bayne (1974) vermuten, daß beide Reaktionen gleichzeitig ablaufen können, eine Hypothese, die durch die Untersuchungen von Livingstone und Bayne (1977) sowie Widdows et al., (1979) bestätigt wurde.

Ein großer Teil der bisher geschilderten biochemischen Anpassungsmechanismen wurde an Anneliden und Mollusken der Gezeitenzone erarbeitet. Invertebraten der Gezeitenzone sind von ständig wechselnden Bedingungen der Sauerstoffversorgung betroffen. Sie sind daher interessante Objekte eines Studiums, das die Anpassungen euryoxischer Tiere an ihre Umwelt zum Gegenstand hat. Die Tiere müssen in periodischen Abständen zwischen aerober und anaerober Energiegewinnung wechseln. Sie weisen nicht nur biochemische Anpassungen an das Leben ohne Sauerstoff auf, sondern auch

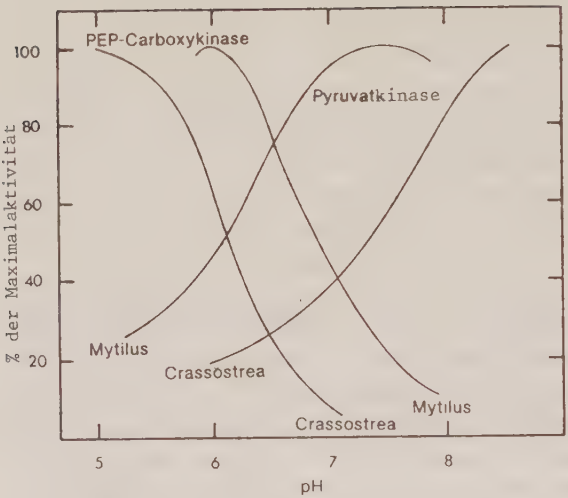


Abb. 2: pH-Abhängigkeit der katalytischen Aktivität von Pyruvatkinase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, dargestellt am Beispiel von Crassostrea gigas (nach Hochachka und Mustafa, 1972) und Mytilus edulis (nach de Zwaan und de Bont, 1975), aus Newell (1979).

physiologische Mechanismen der Anpassung, die ihnen eine Ausnutzung des oft nur in geringen Mengen zur Verfügung stehenden Sauerstoffes ermöglichen. Sie besitzen oft Atempigmente, die durch niedrige Werte der halbmaximalen Sauerstoffsättigung (P_{50}) charakterisierbar sind (Mangum, 1976; Weber, 1978). Bei Anneliden treten vasculäre und coelomäre Pigmente auf, von denen die Pigmente des Blutkreislaufes sich durch Kooperativität und pH-Abhängigkeit der Sauerstoffbindung auszeichnen, wohingegen die Pigmente der Coelomflüssigkeit in der Regel einfache hyperbolische Bindungskurven und eine höhere O_2-Affinität aufweisen (Mangum, 1970; Mangum et al., 1975; Mangum und Carhart, 1972; Wells und Warren, 1982). Coelomäre Pigmente mit ähnlichen Eigenschaften finden sich bei Echiuriden (Redfield und Florkin,

1931), Priapuliden (Weber et al., 1979) und Sipunculiden (Florkin, 1933). Mit Blick auf die Lebensweise der Tiere ergab sich die Frage, ob solchen Pigmenten noch eine Transportfunktion zukommt oder ob diese Eigenschaften nicht eher auf eine Speicherfunktion des Pigmentes in Sauerstoffmangelsituationen hinweisen (Mangum, 1970; Jones, 1972; Weber, 1978, 1980).

Die vorangegangenen Erörterungen weisen darauf hin, daß es Zusammenhänge zwischen der O_2-Versorgung aus der Umwelt, O_2-Aufnahme durch das Tier, Eigenschaften des Atempigmentes sowie Kapazität und Modus der anaeroben Energiegewinnung gibt. Nicht zu vergessen sind die Auswirkungen des anaeroben Energiestoffwechsels auf den Säure-Basen-Haushalt, denen für den Fall der Succinatgärung wie oben geschildert eine regulatorisch wirksame Rückkopplung mit dem Energiestoffwechsel zugeschrieben wird. Selten wurde jedoch das Zusammenspiel zwischen den genannten physiologischen und den biochemischen Parametern bei biotop- und funktionsbedingter Anaerobiose an einem Organismus der Gezeitenzone untersucht (s. z.B. Toulmond, 1973; Pionetti und Toulmond, 1980). Es soll daher Ziel dieser Arbeit sein, die Zusammenhänge zwischen biochemischen und physiologischen Anpassungen an Hypoxien aufzuzeigen.

Bei der Suche nach einem geeigneten Objekt fiel die Wahl auf *Sipunculus nudus* L., da zum Zeitpunkt des Beginnes der Untersuchungen, im Herbst 1979, bereits Details über den Energiestoffwechsel dieses Tieres bekannt waren, die es in hervorragender Weise für eine umfassende Untersuchung als geeignet erscheinen ließen (s.u.)

Sipunculus nudus (s. Abb. 3) gehört zum Tierstamm der Sipunculiden. Die systematische Einordnung dieses Tierstammes ist noch unklar (s. Baltzer, 1931; Hyman, 1959). Am wahrscheinlichsten scheint eine Eingliederung in die Nähe der Anneliden (Hadzi, 1976; Florkin, 1976). *Sipunculus nudus* lebt nach eigenen Beobachtungen im Sandwatt der Gezeitenzone und dort in der Regel in Regionen, die nahe der Niedrig-

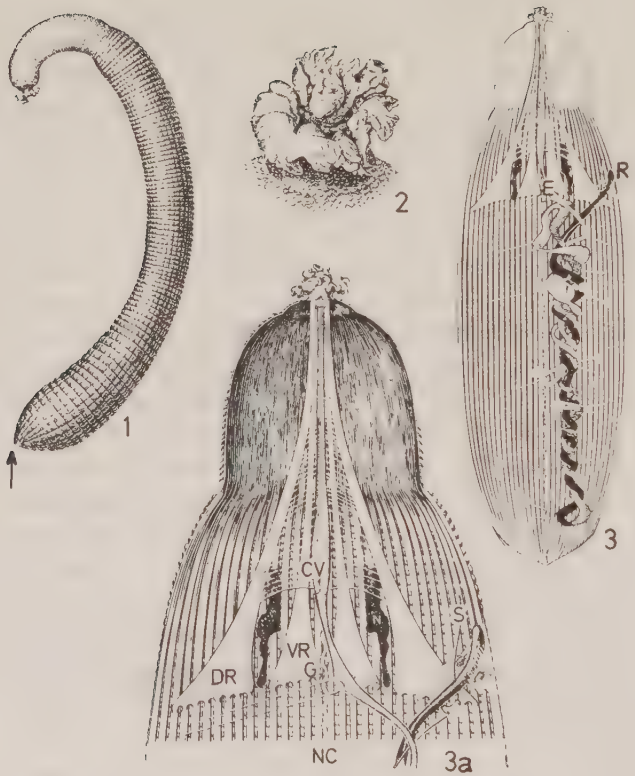


Abb. 3: Externe und interne Anatomie von Sipunculus nudus L.

1. Gesamtansicht mit Rumpf, Introvert und Tentakeln
2. Tentakelkranz am oralen Ende
3. und 3. a schematische Darstellung eines aufgeschnittenen Tieres
CV - Kontraktiles Gefäß, DR - Dorsaler Retraktormuskel, E - Oesophagus, G - Gonade, N - Nephridium, NC - Nervenstrang, R - Rektum, S - Spindelmuskel, VR - Ventraler Retraktormuskel, ⟶ perforierbare Region am caudalen Pol (verändert aus Rice und Todorović, 1975)

wasserlinie liegen und während des Niedrigwassers wassergesättigt bleiben (s. Abb. 4). Dies trifft für das Sandwatt bei Morgat und Locquémeau zu, in dem die Tiere für die vorliegen-

den Untersuchungen gesammelt wurden (s.a. Hérubel, 1907; Edmonds, 1962). Hérubel gibt eine weite Verbreitung der Art an, die Meerestiefen bis zu 2300 m umfaßt. Im Sand nehmen die Tiere nach Hérubel eine horizontale Position ein und strecken bei Flut die Tentakeln aus. Sie legen keinen Bau an, der permanenten Charakter hat (Hyman, 1959). Ihre Bewegungen umfassen hauptsächlich Grab- und Schwimmbewegungen (von Uexküll, 1903; Hérubel, 1907; Zuckerkandl, 1950; Trueman und Foster-Smith 1976). Die Nahrungsaufnahme scheint beim Graben zu erfolgen (Hyman, 1959).

Abb. 4: Lebensraum von Sipunculus nudus L. im Sandwatt bei Locquémeau, Frankreich. Die Tiere halten sich in Regionen auf (⟶), die bei Niedrigwasser wassergesättigt bleiben.

Sipunculus nudus nimmt unter den Sipunculiden eine Sonderstellung ein. Vergleichbar mit anderen Invertebraten wie Mollusken, Crustaceen und Insekten, aber im Gegensatz zu anderen Sipunculiden besitzt dieses Tier Phospho-L-Arginin als Phosphagen (Meyerhof, 1928). Hinzu kommt, daß *Sipunculus nudus* in der Lage ist, aus L-Arginin und Pyruvat Octopin zu bilden (Thoai und Robin, 1959), eine Eigenschaft, die das

Tier mit vielen Mollusken gemeinsam hat (Regnouf und Thoai, 1970; Gäde, 1980a).

Grieshaber und Zebe (1978) sowie Grieshaber und Hitzemann (1979) wiesen nach, daß *Sipunculus nudus* in ausgeprägter Form sowohl zu einer funktionsbedingten als auch zu einer biotopbedingten Anaerobiose fähig ist, die entsprechend der Unterscheidung nach Zebe et al. (1980) durch die verschiedenen Gärungstypen charakterisierbar sind. Bei starker Muskelaktivität dominiert die anaerobe Glykolyse, die zu einer Akkumulation von Octopin führt. Experimentelle Anaerobiose, die eine langfristige Inkubation der Tiere in verschlossenen Gefäßen ohne Sauerstoff beinhaltet, führt zu einer Akkumulation von Succinat, Propionat und Acetat im Gewebe und zu einer Ausscheidung der Fettsäuren in das umgebende Seewasser. In beiden Situationen des Sauerstoffmangels kommt es zu einem Abbau des Phosphagens der Tiere.

Sipunculus nudus stellt nicht nur aufgrund der ausgeprägten Möglichkeiten zu funktions- und biotopbedingter Anaerobiose ein ideales Objekt für die konzipierten Untersuchungen dar, sondern auch aufgrund seiner einfachen und klaren Morphologie (s. Abb. 3 und Metalnikoff, 1900). Schon früh wurde diese Art daher zu muskelphysiologischen Untersuchungen herangezogen (von Uexküll, 1896, 1903; Fuchs, 1910). Der Hautmuskelschlauch ist das quantitativ überwiegende Gewebe der Tiere. Das Coelom stellt einen ungegliederten Hohlraum dar, der mit einer Flüssigkeit gefüllt ist, die über 50% des Gesamtgewichtes einnimmt (Florkin, 1933). Die Introvertretraktoren sind leicht präparierbar, und mit der Möglichkeit, die Längsmuskulatur von dem restlichen Gewebe des Hautmuskelschlauches zu trennen, sind zwei wesentliche Muskelgewebe des Tieres isoliert untersuchbar.

Über eine dünne Stelle des Hinterendes (s. Abb. 3, S. 12) kann ein Katheter in das Coelom gelegt werden. Damit ist eine methodische Voraussetzung für die Messung von pH, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit erfüllt. Schließt man den Kathe-

ter an einen arteriellen Druckaufnehmer an, so sind in der Coelomflüssigkeit Druckschwankungen meßbar. Da *Sipunculus nudus* als hydraulisches System funktioniert (von Uexküll, 1903), sind sämtliche Bewegungen mit Druckänderungen verbunden, die mit Hilfe der kräftigen Muskulatur im Coelom erzeugt werden (Zuckerkandl, 1950; Trueman und Foster-Smith, 1976). Der gemessene Druck stellt ein Maß für die Kraft dar, die von der Muskulatur ausgeübt wird (Trueman, 1975).

Auf der Grundlage der vorangegangenen Erörterungen ergeben sich folgende zentrale Problemstellungen:

1. Die Betrachtung des Energiestoffwechsels von *Sipunculus nudus* soll ausgehend von den Ergebnissen von Grieshaber und Hitzemann (1979) erweitert und auf Unterschiede zwischen den Muskelgeweben und auf die Vorgänge in der Coelomflüssigkeit ausgedehnt werden. Anschließend soll die Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von der Sauerstoffversorgung im Vordergrund stehen. Dabei stellt sich die Frage, wie sich der Sauerstoffverbrauch mit abnehmendem P_{O_2} im Atemmedium ändert und bei welchem P_{O_2} ein anaerober Energiestoffwechsel einsetzt.

2. Früheren Untersuchungen von Florkin (1933), Boeri und Ghiretti-Magaldi (1957), Bates et al. (1968) und Bossa et al. (1970) zufolge weist das Atempigment Haemerythrin des *Sipunculus nudus* Eigenschaften eines typischen coelomären Pigmentes auf, wie sie oben geschildert wurden. Es soll experimentell geklärt werden, ob das Pigment Speicher- und/oder Transportfunktion besitzt und welchen quantitativen Beitrag es zur Energiegewinnung des Tieres bei einsetzendem Sauerstoffmangel leistet.

3. Bei der Betrachtung des anaeroben Energiestoffwechsels von *Sipunculus nudus* stellt sich die Frage, welchen Einfluß die angehäuften Metabolite auf den Säure-Basen-Haushalt haben. Gegebenenfalls auftretende Änderungen im Säure-Basen-Haushalt sollen unter folgenden Gesichtspunkten erarbeitet werden:

a) Der experimentelle Nachweis, daß dem intrazellulären pH eine regulatorische Rolle im Energiestoffwechsel zukommt, steht bisher aus. Zwar wurde von vielen Autoren postuliert,

daß der pH_i bei biotopbedingter Anaerobiose abnimmt; bisher wurde jedoch nur für den extrazellulären pH nachgewiesen, daß der bei Mollusken und Anneliden unter Bedingungen des Sauerstoffmangels in mehr oder weniger großem Ausmaß abfällt (Crenshaw und Neff, 1969; Toulmond, 1973, 1975; Wijsman, 1975). Für die vorliegende Arbeit sollen Veränderungen des intrazellulären pH während einer Anaerobiose mit Blick auf die Regulation des Energiestoffwechsels systematisch untersucht werden.

b) Eine quantitative Gegenüberstellung der Vorgänge im Energiestoffwechsel und der Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt erscheint erstrebenswert, wie sie von Piiper (1980) für die Laktatproduktion bei Muskelaktivität versucht wurde. Auf diese Weise soll die Frage beantwortet werden, ob anaerobiosebedingte Änderungen im Säure-Basen-Haushalt wirklich durch Änderungen von Metabolitkonzentrationen erklärbar sind.

c) Nach den Überlegungen von Zammit (1978) ist Octopin eine schwache Säure, die im Extrazellulärraum octopinbildender Tiere wie z.B. Cephalopoden keine Acidose in dem Ausmaß hervorrufen kann wie es von der Milchsäure schon lange bekannt ist (Claude Bernard, 1855, zitiert nach Needham, 1971). Diese Hypothese wurde von einigen Autoren übernommen (Thompson et al., 1980; Ebberink et al., 1981) und soll für *Sipunculus nudus* überprüft werden.

4. Schließlich sollen physiologische und biochemische Anpassungen an den Sauerstoffmangel stärker auf die Umwelt der Tiere bezogen werden als dies bei den meisten oben zitierten Arbeiten geschehen konnte, die sich mit den grundlegenden biochemischen Anpassungsmechanismen beschäftigten. Für *Sipunculus nudus* ist also die Lebensweise im Sediment zu berücksichtigen. Da die Kenntnisse über Leben und Verhalten der Tiere noch ungenügend sind, müssen zunächst Beobachtungen in einer simulierten, möglichst biotopnahen Umgebung durchgeführt werden. Ein Hilfsmittel ist hierfür die oben genannte Möglichkeit der Druckaufzeichnung. Auf der Grundlage der erworbenen Kenntnisse sollen einige der bisher geschilderten Fragestellungen erneut

aufgegriffen und die Veränderungen physiologischer und biochemischer Parameter bei Sauerstoffmangel im simulierten Biotop untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Sipunculus nudus wurde im Juni/Juli 1979, November 1979, August 1980, Oktober 1980 und März 1981 an zwei verschiedenen Orten der bretonischen Küste (Frankreich) gesammelt. Große Tiere mit einem Gewicht von 20 - 40 g (Durchschnittsgewicht 31,35 ± 8,08 g, n = 28) stammten aus einem Sandwatt in der Nähe von Loquémeau, kleine Tiere mit einem Gewicht von 5 - 12 g (Durchschnittsgewicht 7,91 + 2,45 g, n = 44) aus der Bucht von Morgat. Die Tiere wurden zunächst in der biologischen Station, Roscoff, in fließendem natürlichem Seewasser gehältert. Erste Versuche wurden im Juli 1979 in Roscoff mit dort nur kurzfristig gehälterten Tieren durchgeführt (s. 3.1.1., 2.).

Der 12 - 13-stündige Transport nach Münster bzw. Düsseldorf erfolgte in feuchtem Sand ohne überstehendes Wasser oder in Thermogefäßen ohne Wasser und ohne Sand. Die Mortalitätsrate lag während des Transportes und in den folgenden Wochen unter 20 %.

In Münster bzw. Düsseldorf wurden die Tiere in künstlichem Seewasser und in Sand, der vom jeweiligen Fundort stammte, bei 10 - 15° C gehältert. Nach unterschiedlichen Zeiten der Hälterung wurden sie im Versuch eingesetzt. Um den Einfluß jahreszeitlicher Schwankungen des Stoffwechsels und gegebenenfalls auftretenden Hungerstoffwechsels auf ein Experiment möglichst klein zu halten, wurden in einem Versuch nur Tiere verwandt, die zur gleichen Zeit gegraben worden waren.

Für die Untersuchungen über den Stoffwechsel, die Atemphysiologie und den Säure-Basen-Haushalt von *Sipunculus nudus* wurden kleine Tiere aus Morgat verwandt. Bei den Untersuchungen zur Atemphysiologie und zum Säure-Basen-Haushalt erwies sich daneben die Verwendung großer Tiere als sinnvoll. Aufgrund des höheren Volumens der Coelomflüssigkeit konnten einem Tier während des gesamten Versuchsverlaufs mehrere Proben entnommen werden.

2.2. Untersuchungen zum Stoffwechsel

2.2.1. Präparation der Tiere, Gewichtsverhältnisse

Zur Analyse des Stoffwechsels der Muskulatur bzw. der Coelomflüssigkeit wurden die Tiere nach Beendigung der jeweiligen Inkubation dem Versuch entnommen und sofort aufgearbeitet. Nach Abtrennung des glatten, caudalen Endes (s. Abb. 3, S.12) wurde, falls benötigt, ein Teil der auslaufenden Coelomflüssigkeit in einem eisgekühlten Eppendorf-Reaktionsgefäß aufgefangen. Anschließend wurde der Hautmuskelschlauch dorsal bis zum Introvert (s. Abb. 3, S.12) aufgeschnitten. Nach dem Entfernen von Introvert (mit Cerebralganglion), Darm, Nephridien und Bauchmark wurden die Retraktoren und der restliche Hautmuskelschlauch gegebenenfalls getrennt, mit der Gefrierzange (Wollenberger et al., 1960) schockgefroren und bis zur Anfertigung der Perchlorsäureextrakte (s. 2.2.4.1.) in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

Zur Aufarbeitung der Coelomflüssigkeit wurden die Coelomocyten durch einminütige Zentrifugation bei maximaler Drehzahl in einer Eppendorf-Tischzentrifuge bzw. einer Eurohama-Zentrifuge (Mod. 85-1 der Firma Runne, Heidelberg) abgetrennt. Zellen und Überstand (Coelomoplasma) wurden nach der Trennung sofort mit Perchlorsäure extrahiert.

Bei mehreren im Oktober 1980 gegrabenen kleinen Tieren wurden die quantitativen Gewichtsverhältnisse ermittelt, um den Anteil der Coelomflüssigkeit und der Muskulatur am Gesamtgewicht festzustellen. Der Darm war bei diesen Tieren entleert bzw. mit Wasser gefüllt.

Tab. 1: Gewichtsanteile der Muskulatur, der Coelomflüssigkeit und des restlichen Gewebes am Gesamtgewicht kleiner Exemplare von Sipunculus nudus , Angabe in %, n = Zahl der untersuchten kleinen Tiere.

Gesamtgewicht :	7,91 ± 2,45 g (n = 44)
davon Coelomflüssigkeit :	52,32 ± 2,62 % (n = 19)
Muskulatur :	38,44 ± 2,95 % (n = 23)
davon Retraktoren :	6,86 ± 0,65 % (n = 11)
Rest :	14,00 ± 4,94 % (n = 19)

Vom gesamten Hautmuskelschlauch (ohne Retraktoren) wurden bei der Aufarbeitung Introvert und caudales Ende entfernt (s.o.), d.h. 79,45 ± 4,10 % wurden verwandt (n = 44). Dies sind vom Gesamtgewicht: 27,25 ± 4,34 % (n = 44).

Aufgrund dieser Daten wurde für Berechnungen, die bei den vorliegenden Untersuchungen durchzuführen waren, ein Gewichtsanteil der Coelomflüssigkeit am ganzen Tier von 52 % und des Gewebes von 48 % zugrundegelegt.

Bei den Untersuchungen zur Atemphysiologie ergaben sich für große und kleine Tiere unterschiedliche Hämatokritwerte. Der Anteil haemerythrinhaltiger Zellen betrug bei großen Tieren (31,35 ± 8,08 g, n = 28) 7,80 ± 2,33 %, bei kleinen Tieren (10,27 ± 2,59 g, n = 11) dagegen 4,05 ± 1,96 %.

2.2.2. Chemikalien

Es wurden Chemikalien mit höchstmöglichem Reinheitsgrad benutzt. Feinbiochemika der Reinheitsstufe I und II und einen großen Teil der Enzyme lieferte die Firma Boehringer, Mannheim. Andere Biochemika wie Octopin, Phospho-L-Arginin und Argininkinase stammten von der Firma Sigma, St.Louis, Missouri. Die Octopindehydrogenase wurde nach Grieshaber et al. (1978) isoliert und gereinigt.

Eichpuffer pH 6.90 und 7.445 (bei 15° C) und sauerstofffreie Eichlösung lieferte die Firma Radiometer, Kopenhagen. ^{14}C-5,5-Dimethyloxazolidin-2,4-dion (DMO) und ^{3}H-Inulin lieferte die Firma Amersham / Buchler, Braunschweig. Die Szintillationsflüssigkeit für ^{3}H (Monophase 40) und für ^{14}C (Permafluor 5) stammten von der Packard Instrument Company, Illinois, USA. Weitere, insbesondere anorganische Chemikalien lieferte die Firma Merck, Darmstadt.

2.2.3. Meßgeräte

Die Metabolitbestimmungen wurden photometrisch mit einem Uvikon 710 der Firma Kontron, einem Zeiss PL 4, einem Acta V der Firma Beckman Instruments oder fluorometrisch mit einem

Fluorometer Foci A 4 der Firma Farrand durchgeführt. Bei allen Bestimmungen wurde der Reaktionsverlauf mit einem Kompensationsschreiber aufgezeichnet.

Die quantitative Bestimmung von Essigsäure und Propionsäure erfolgte mit einem Gaschromatographen Modell 419 der Firma Packard. Die 3 m lange Säule aus Glas mit einem Innendurchmesser von 3 mm enthielt als Trennmaterial Chromosorb WAW 60 - 80 mesh, beschichtet mit 20 % w/w Polyäthylenglykoladipat und 3 % w/w Phosphorsäure (Metcalfe, 1963). Die N_2-Durchflußgeschwindigkeit betrug 30 ml/min, die Temperatur der Säule 140° C, die des Injektors 250° C und die des Flammen-Ionisationsdetektors 240° C.

2.2.4. Quantitative Metabolitbestimmungen

2.2.4.1. Perchlorsäureextrakte

Änderungen im Energiestoffwechsel, die unter den verschiedenen Versuchsbedingungen auftraten, wurden durch die quantitative Bestimmung wichtiger Metabolite im Gewebe, in der Coelomflüssigkeit und gegebenenfalls im Inkubationswasser verfolgt. Zu diesem Zweck wurden Coelomzellen und Coelomplasma sowie das zu untersuchende Gewebe mit Perchlorsäure extrahiert (vgl. Beis und Newsholme, 1975).

Nach Abtrennung der Coelomocyten wurde das so erhaltene Coelomplasma mit einem Zehntel seines Volumens an 6 N Perchlorsäure versetzt. Anschließend wurde das ausgefällte Protein durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand mit Hilfe von 5 M KOH auf einen pH von 7,5 - 8,0 gebracht. Das ausgefällte Kaliumperchlorat wurde wiederum durch Zentrifugation abgetrennt. Der Überstand wurde bis zur Analyse bei -20° C aufbewahrt.

Die Coelomzellen wurden zur Extraktion mit dem 3-fachen Volumen (Volumen/Gewicht) an eisgekühlter 0,6 N Perchlorsäure versetzt. Anschließend wurde mit Hilfe eines Halbmikrohomogenisators der Firma KaVo-Technik, Leutkirch, im Eppendorf-Reaktionsgefäß unter Kühlung in einer Eis-Kochsalz-Mischung 3 x 5 sec

bei ca. 20.000 U/min homogenisiert. Die Zentrifugation erfolgte mit Hilfe der Eurohama-Zentrifuge (s.o.) für 1,5 min bei maximaler Drehzahl. Das Sediment wurde verworfen. Dem Überstand wurden je nach Volumen zur genauen Neutralisation 5 - 10 µl 0,1 % Phenolrot zugesetzt (Farbumschlag zwischen pH 6,8 und 8). Die Neutralisation erfolgte durch Zugabe von 5 M KOH mit Hilfe einer Mikroliterspritze der Firma Hamilton. Der neutralisierte Extrakt wurde nach Abtrennung des Perchlorates durch Zentrifugation ebenfalls bei -20° C aufbewahrt.

Die in flüssigem Stickstoff aufbewahrte Muskulatur (Hautmuskelschlauch mit bzw. ohne Introvertretraktoren) wurde vor der Perchlorsäureextraktion gewogen und in einem mit flüssigem Stickstoff vorgekühlten Porzellanmörser zu einem feinen Pulver zerrieben. Das Gewebepulver wurde quantitativ in einen eisgekühlten Metallzentrifugenbecher überführt, der das 3-fache Volumen 0,6 N Perchlorsäure enthielt. Die Homogenisation erfolgte unter Kühlung im Eisbad am Ultra-Turrax (3 x 30 sec, maximale Drehzahl). Anschließend wurde in einer Sorvall-Kühlzentrifuge vom Typ RC 5 10 min bei 50 000 x g zentrifugiert. Das Sediment wurde verworfen, der Überstand mit 5 M KOH vorsichtig auf einen pH von ca. 7,5 gebracht und wiederum 10 min bei 50 000 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde auf mehrere Eppendorf-Reaktionsgefäße verteilt und bis zur Analyse bei -20° C aufbewahrt.

Die angegebene Methode erwies sich für die isolierte Aufarbeitung der Retraktoren als wenig geeignet. Infolge des geringen Gewichtes der Retraktoren kleiner Tiere (6,86 % des Gesamtgewichtes der Muskulatur) mußte oft mehr als die dreifache Menge Perchlorsäure eingesetzt werden. Aufgrund des geringen Extraktvolumens war die Gefahr des Erhitzens bei der Homogenisation groß. Die geschilderte Methode wurde daher nur bei den ersten Untersuchungen des Stoffwechsels (Roscoff, Juli 1979, s. 3.1.1.,2.) angewandt. Bei weiteren Experimenten in Münster erfolgte die Extraktion der Retraktoren nach einem Halbmikroverfahren:

Das gefrorene Gewebe wurde in einem ausgedrehten Aluminium-

Block (als Halbmikromörser) mit Hilfe eines passenden Aluminiumstempels zerschlagen. Die zerkleinerten Retraktoren wurden anschließend in ein vorgewogenes Eppendorf-Reaktionsgefäß (2,2 ml) überführt, welches 1 - 1,5 ml gefrorene 0,6 N Perchlorsäure enthielt. Das Frischgewicht des Gewebes wurde durch erneutes Auswiegen festgestellt. Homogenisation und Zentrifugation erfolgten wie oben bei der Aufarbeitung der Coelomzellen geschildert.

Die Verdünnungsfaktoren wurden aus dem Volumen der eingesetzten Perchlorsäure und aus dem Frischgewicht berechnet. Für die Berechnung wurde ein Wassergehalt des Gewebes von ca. 80 % berücksichtigt. Dieser Wert bestätigte sich bei Trockengewichtsbestimmungen von Hautmuskelschlauch und Retraktoren, die bei den Untersuchungen zum intrazellulären pH-Wert durchgeführt wurden (s. 2.3.6.).

2.2.4.2. Enzymatische Bestimmungen

Die quantitative Bestimmung der aufgeführten Metabolite erfolgte im enzymatisch optischen Test nach Warburg und Christian (1936).

Ausgewählte Metabolite wurden photometrisch wie folgt bestimmt: Malat nach Lowry und Passonneau (1972), Succinat nach Boehringer (1980), D-Laktat nach Gawehn und Bergmeyer (1974), L-Alanin nach Williamson (1974), D-Alanin nach Graßl (1974), L-Aspartat nach Bergmeyer et al. (1974 a), L-Arginin und Phospho-L-Arginin nach Grieshaber et al. (1978), ATP nach Lamprecht und Trautschold (1974), ADP und AMP nach Jaworek et al. (1974).

Fluorometrisch wurden bestimmt: Octopin nach Grieshaber (1976), aus Introvertretraktoren extrahiertes ADP und AMP nach Lowry und Passonneau (1972), nach denselben Autoren wurde auch Malat aus Coelomzellen, -plasma und Introvertretraktoren bestimmt.

2.2.4.3. Isolierung und Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren

Vor der Bestimmung am Gaschromatographen wurden Essigsäure und Propionsäure mit Hilfe der Wasserdampfdestillation aus Perchlor-

säureextrakten und, falls benötigt, aus dem Inkubationswasser isoliert. Hierzu wurde ein Aliquot des betreffenden Perchlorsäureextraktes (von 0,3 - 3 ml) mit 10 - 20% des Volumens an konzentrierter Schwefelsäure versetzt. 50 - 100 ml des Inkubationswassers wurden zunächst mit 0,1 N NaOH auf einen pH von 8 gebracht, anschließend im Rotationsverdampfer auf ein Volumen von 3 - 5 ml eingeengt und dann auf die gleiche Weise angesäuert. Die Destillation erfolgte so lange, bis das Volumen des Destillates etwa das 15- bis 20-fache des Ausgangsvolumens der eingesetzten Probe erreicht hatte.

Das Destillat wurde mit 0,1 N NaOH auf einen pH von 8 gebracht und im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingeengt. Anschließend wurde der Rückstand je nach Ausgangsvolumen der Probe mit 0,2 - 0,5 ml 5% o-Phosphorsäure aufgenommen und in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß bei -20° C bis zur Analyse aufbewahrt.

Das auf die Säule des Gaschromatographen gegebene Volumen betrug 3 µl. Die quantitave Bestimmung erfolgte durch Vergleich mit einer Standardlösung von 5 mmol/l Essigsäure und 3 mmol/l Propionsäure in 3% o-Phosphorsäure.

2.2.5. Bestimmung der Enzymaktivitäten

Folgende Enzyme wurden zur Aktivitätsbestimmung ausgewählt, um Aufschluß über den Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus* zu erhalten: Glykogenphosphorylase (EC 2.4.1.1), Hexokinase (EC 2.7.1.1), Phosphofructokinase (EC 2.7.1.11), Fructose-1,6-bisphosphatase (EC 3.1.3.11), Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase (EC 1.2.1.12), Pyruvatkinase (EC 2.7.1.40), Laktatdehydrogenase (EC 1.1.1.27/28), Octopindehydrogenase (EC 1.5.1.11), Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37), α-Glycerophosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.8), Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (Carboxylierungsrichtung) (EC 4.1.1.32), „Malat-Enzym" (Carboxylierungsrichtung) (Malatdehydrogenase, decarboxylierend, $NADP^+$, EC 1.1.1.40), Argininkinase (EC 2.7.3.3), Citratsynthase (EC 4.1.3.7), Isocitratdehydrogenase, NAD^+ (EC 1.1.1.4 1), Isocitratdehydrogenase, $NADP^+$ (EC 1.1.1.42),

Succinatdehydrogenase (EC 1.3.99.1).

2.2.5.1. Herstellung der Homogenate

Zur Untersuchung der Enzymaktivitäten wurden große Tiere eingesetzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie unter 2.2.1. beschrieben. Bei der Präparation des Hautmuskelschlauches konnte die Längsmuskulatur mit Hilfe eines Skalpells gut und schnell vom restlichen Gewebe getrennt werden. Dieses restliche Gewebe, welches hauptsächlich aus Cutis, Cuticula, Coelomkanälen und Ringmuskulatur besteht (Metalnikoff, 1900), wird im folgenden vereinfacht als Ringmuskulatur bezeichnet. Vor der Homogenisation wurde das Gewichtsverhältnis zwischen beiden Geweben festgestellt. Am Hautmuskelschlauch betrug der Anteil der Ringmuskulatur 49,18 ± 2,38 % und derjenige der Längsmuskulatur 50,82 ± 2,38 % (n = 7). Unter Verwendung dieser Gewichtsanteile wurden die Enzymaktivitäten für den gesamten Hautmuskelschlauch berechnet, um sie den ermittelten Metabolitkonzentrationen gegenüberstellen zu können.

Die mit Hilfe einer Schere grob zerkleinerten Muskelstücke wurden im 10-fachen Volumen des betreffenden Homogenisationsmediums bei 0° C mit Hilfe des Ultra-Turrax (3 x 30 sec, maximale Drehzahl) homogenisiert. Das Homogenisationsmedium wurde für Argininkinase, Hexokinase, Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, Laktatdehydrogenase, Octopindehydrogenase, α-Glycerophosphat-Dehydrogenase, Phosphofructokinase, Succinatdehydrogenase, Malatdehydrogenase , „Malat-Enzym", Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase und alkalische Fructose-1,6-bisphosphatase nach Zammit und Newsholme (1976), für Pyruvatkinase nach Zammit et al. (1978), für Isocitratdehydrogenasen und Citratsynthase nach Alp et al. (1976) gewählt. Das Homogenisationsmedium für Phosphorylase enthielt 50 mmol/l TraHCl, 5 mmol/l EDTA und 20 mmol/l NaF bei pH 7,0.

Nach der Homogenisation wurde 15 min bei 50 000 x g zentrifugiert. Zur Quantifizierung der partikelgebundenen Succinatdehydrogenase wurde der Niederschlag im 15-fachen Volumen 50 mmol/l Phosphatpuffer pH 7,2 aufgenommen und erneut am

Ultra-Turrax homogenisiert. Die Suspension wurde im Test eingesetzt.

Die Aktivitätsbestimmung der Enzyme des Cytosols erfolgte im Überstand, dessen niedermolekulare Bestandteile meistens durch Sephadex G-25 abgetrennt wurden. Der Verdünnungsfaktor für das Homogenat wurde durch Proteinbestimmung nach Lowry et al. (1951) überprüft.

Nach der Abtrennung der niedermolekularen Substanzen konnte für Phosphorylase, Malatdehydrogenase, „Malat-Enzym", Octopindehydrogenase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase keine Änderung der Enzymaktivität festgestellt werden. Bei der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase führte diese Behandlung dagegen zu einem fast vollständigen Aktivitätsverlust.

2.2.5.2. Testansätze

Die Bestimmung der Enzymaktivitäten erfolgte bei 25° C nach folgenden Autoren: Argininkinase nach Grieshaber et al. (1978), Octopindehydrogenase nach Haas et al. (1973), Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase nach Utter und Kurahashi (1954), Pyruvatkinase nach Zammit et al. (1978), Hexokinase, Laktatdehydrogenase, α-Glycerophosphat-Dehydrogenase und Phosphofructokinase nach Zammit und Newsholme (1976), Fructose-1,6-bisphosphatase nach Latzko und Gibbs (1974), Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase nach Bergmeyer et al. (1974 b), NADH-abhängige Malatdehydrogenase nach Mehler et al. (1948), „Malat-Enzym" (carboxylierend) nach de Zwaan und van Marrewijk (1973 b), modifiziert nach Wienhausen (1976), Citratsynthase und NADH-abhängige Isocitratdehydrogenase nach Alp et al (1976), NADPH-abhängige Isocitratdehydrogenase modifiziert nach Alp et al. (1976) (Der Test enthielt 70 mmol/l Tris/HCl pH 7,5, 1,13 mmol/l DL-Isocitrat, 7,5 mmol/l Citrat, 0,5 mmol/l NADP, 2 mmol/l $MnCl_2$, 8 mmol/l $MgCl_2$), Succinatdehydrogenase nach Brdiczka et al. (1968).

Der Testansatz für Phosphorylase enthielt 40 mmol/l Kaliumphosphatpuffer pH 6,8, 0,1 mmol/l EDTA, 0,3 mmol/l NADP, 0,004 mmol/l Glucose-1,6-bisphosphat, 25 mmol/l $MgCl_2$, 2 mg/ml Glyco-

gen, 0,1 U/ml Phosphoglucomutase, 0,1 U/ml Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. Die Hilfsenzyme wurden mit 0,1 % Rinderserumalbumin verdünnt. Die Phosphorylase wurde durch Zusatz von 0,5 mmol/l 5' AMP aktiviert.

Die Enzymaktivitäten wurden in U/g FG berechnet.

2.3. Untersuchungen zur Atemphysiologie und zum Säure-Basen-Haushalt

2.3.1. Vorbereitung der Tiere

Voraussetzung dafür, den pH-Wert und die Konzentrationen von O_2 und CO_2 in der Körperflüssigkeit von Tieren unter experimentellen Bedingungen zu messen, ist ein Verfahren, das es ermöglicht, die Tiere während des Versuches und bei der Entnahme einer Probe Körperflüssigkeit nicht zu irritieren; denn auch eine nur kurzfristige Störung kann zu Änderungen der zu erfassenden Parameter führen. Weiterhin ist es erforderlich, bei der Entnahme der Probe und ihrer Überführung in die jeweilige Meßapparatur den Kontakt mit Luft zu verhindern. Mit Hilfe eines in den Coelomraum des Tieres intubierten Katheters und unter Benutzung gasdichter Spritzen können diese Voraussetzungen erfüllt werden.

Die Intubation eines Katheters (PE 60 der Firma Adams, Parsippany, N.J., USA) erfolgte bei *Sipunculus nudus* über eine dünne Stelle am caudalen Pol des Tieres. Es handelt sich dabei um eine Stelle mit dünner Muskelschicht und dicker Cuticula (s. Abb. 3, S. 12). Ein Durchstechen dieser Region ist ohne größere Verletzung des Tieres möglich. Um ein Verstopfen der Katheteröffnung durch „Clotting" (vgl. Bang und Bang, 1965) zu vermeiden und um die Probenentnahme aus einem größeren Bereich der Coelomflüssigkeit zu ermöglichen, wurden in die Katheterwand am vorderen Ende drei zusätzliche Öffnungen geschnitten. Trotzdem auftretende Verstopfungen konnten durch einen einführbaren V2A-Stahldraht entfernt werden. Der Stahldraht diente auch zur Stabilisierung der Katheterspitze beim Einstechen in den Wurm.

Der Katheter wurde über einen PVC-Schlauch mit einer Spritze verbunden und vor der Intubation mit künstlichem Seewasser gefüllt. Die Länge des Katheters betrug ca. 75 cm, das Ausschlußvolumen 0,3 - 0,35 ml. Nach dem Einstechen wurde der Stahldraht entfernt und der Katheter maximal bis zur Mitte des Tieres vorgeschoben. In dieser Position wurde der Katheter mit Hilfe von äußerlich aufgetragenem Cyanacrylat-Klebstoff

(Nr. 7432, Bostik GmbH, Oberursel) fixiert.

Die auf diese Weise vorbereiteten Tiere wurden bis zum Versuchsbeginn mindestens 24 h unter Ruhebedingungen bei 15° C gehältert.

2.3.2. Bestimmung von Cl^- in Seewasser und Coelomflüssigkeit

Eine Voraussetzung für die Erfassung des O_2- und CO_2-Gehaltes in Coelomflüssigkeit und Seewasser ist die Bestimmung der Löslichkeit von Sauerstoff und CO_2. Da diese u.a. vom Salzgehalt der Lösung abhängt, wurde der Chloridgehalt in beiden Flüssigkeiten mit Hilfe eines Chloridtitrators CMT 10 der Firma Radiometer, Kopenhagen, bestimmt. Er betrug in Seewasser und Coelomflüssigkeit übereinstimmend 22 ‰ (s.a. Oglesby, 1969). Die zugehörigen Löslichkeiten wurden Harvey (1974) entnommen und aufgrund des gleichen Chloridgehaltes für beide Flüssigkeiten als gleich angesehen. So betrug die Löslichkeit von Sauerstoff bei 15° C 26,97 ml/l x 760 Torr STPD. Der Löslichkeitskoeffizient α (s. Piiper et al., 1971) betrug für O_2 $1{,}58 \times 10^{-3}$ µmol/ml x Torr STPD und für CO_2 0,051 µmol/ml x Torr STPD.

Bei der Bestimmung des CO_2-Bindungsvermögens im isotonischen Gewebehomogenat (s. 2.3.8.) wurde der für CO_2 in Seewasser und Coelomflüssigkeit ermittelte Löslichkeitskoeffizient übernommen.

2.3.3. Bestimmung des Sauerstoffverbrauches in Abhängigkeit vom O_2-Partialdruck

a) Messung des O_2-Verbrauches

Die Messungen des Sauerstoffverbrauches von *Sipunculus nudus* wurden in einer geschlossenen, auf 15° C temperierten Kammer durchgeführt, die luftblasenfrei mit künstlichem Seewasser gefüllt war. Das Tier befand sich auf einem netzförmigen Gitter ca. 1,5 cm über dem Boden, so daß es durch die Bewegung des sich darunter drehenden Rührflohs nicht gestört wurde.

Das Kammervolumen betrug 630 ml abzüglich des Tiervolumens. Während des Versuches wurde die Kammer mit einem schwarzen Tuch verdunkelt.

Der Sauerstoffverbrauch wurde über die Änderung des O_2-Partialdruckes in der geschlossenen Kammer verfolgt. Die Sauerstoffmessung erfolgte mit einer O_2-Elektrode E 5047 der Firma Radiometer, Kopenhagen, angeschlossen an einen O_2-Monitor (Eigenbau Slama, MPI Göttingen). Die Abnahme des O_2-Partialdruckes wurde mit einem Flachschreiber der Firma Kipp & Zonen, Kronberg /Taunus, aufgezeichnet. Die Eichung der Elektrode erfolgte durch Begasung des Seewassers mit reinem Stickstoff bzw. mit Luft. Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn 2 - 3 Stunden unter Luftbegasung an die Versuchsbedingungen adaptiert. Die Messung wurde mit dem Verschließen der Kammer gestartet und bis zum vollständigen Verbrauch des Sauerstoffes durchgeführt. Anschließend wurde das Wasser gewechselt. Eine erneute Messung mit dem gleichen Tier wurde erst nach einer Erholungszeit von ca. 6 h durchgeführt. Weitere Messungen erfolgten mit 3 h aerob vorinkubierter Muskulatur (Hautmuskelschlauch mit Retraktoren, Präparation s. 2.2.1.) in künstlichem Seewasser, dem 1 g/l Penicillin G und 0,5 g/l Streptomycin zugesetzt worden waren.

Der O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit wurde in einer geschlossenen Glasspritze (Volumen 10 ml) gemessen. Von 5 aerob bei 15° C gehälterten Tieren wurden jeweils 2 ml Coelomflüssigkeit entnommen und vereinigt. Die Spritze wurde mit einer Kappe verschlossen und bei 15° C aufbewahrt. Eine Sedimentation der Zellen wurde durch regelmäßiges Drehen der Spritze von Hand verhindert. In Intervallen von 15 min wurden Coelomflüssigkeitsproben entnommen. Die Bestimmung des P_{O_2} erfolgte nach 2.3.4. Der Volumenanteil der Zellen in der Coelomflüssigkeit betrug 20,5 %.

b) Berechnung des O_2-Verbrauches

Die Berechnung des Sauerstoffverbrauches erfolgte nach:

$$\dot{V}_{O_2} = \frac{a \times \Delta P_{O_2} \times V_{Box}}{t \times 760 \times \text{Tiergewicht}}$$

$\dot{V}_{O_2}$: Sauerstoffverbrauch (µl O_2/g FG x h)
FG : Frischgewicht
a : Löslichkeit von Sauerstoff in µl/l x 760 Torr STPD
ΔP_{O_2}: Änderung des O_2-Partialdruckes in Torr
V_{Box}: Kammervolumen - Tiervolumen bzw. Gewebevolumen (l)
t : Zeit (h)

Der Sauerstoffverbrauch zwischen zwei zur Bestimmung des ΔP_{O_2} gemessenen O_2-Partialdrucken wurde für den mittleren Partialdruck angegeben. Zusätzlich wurde der Sauerstoffverbrauch in nmol/g x h ($\dot{M}_{O_2}$) berechnet.

2.3.4. Bestimmung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit

pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit von *Sipunculus nudus* wurden mit Hilfe des Meßsystems BMS 3 der Firma Radiometer, Kopenhagen, bestimmt. Das Meßsystem enthielt eine auf 15° C temperierte kapillare pH-Glaselektrode (G 229 A), gekoppelt mit dem pH-Monitor PHM 64. Die Elektrode wurde bei pH 6,90 und pH 7,445 mit Radiometer Eichpuffern kalibriert. Die Gasmessungen wurden mit Hilfe von temperierten O_2-Elektroden (E 5047) bzw. CO_2-Elektroden (E 5037) durchgeführt, die mit einem O_2-Monitor (Slama, MPI Göttingen) bzw. einem pH-Monitor PHM 64 gekoppelt waren. An O_2-Monitor und PHM 64 waren zur Aufzeichnung der Meßwerte Kompensationsschreiber der Firma Kipp & Zonen angeschlossen. Die Kalibrierung der Elektroden erfolgte bei 15° C mit wassergesättigten Gasgemischen bekannter Zusammensetzung. Die Gasgemische wurden aus den reinen Gasen O_2, CO_2, N_2 mit Hilfe von Gasmischpumpen der Firma Wösthoff, Bochum, hergestellt. Die Berechnung des CO_2-Partialdruckes erfolgte aus den aufgezeichneten pH-Werten mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung. Aus CO_2-Partialdrucken und pH-Werten wurden rechnerisch die in der Coelomflüssigkeit vorliegenden Bicarbonatkonzentrationen ermittelt (s. 2.3.8.).

Das Volumen, das zur Bestimmung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in einer Probe erforderlich war, betrug 0,3 - 0,6 ml. Bei der Probenentnahme wurde mit verschiedenen Spritzen zunächst das Seewasser aus dem Katheter entfernt, eine Vorprobe von 0,5 - 1 ml genommen und anschließend die eigentliche Probe aufgezogen. Die Vorprobe wurde bei mehrmaliger Probenentnahme an einem Tier in das Coelom zurückgegeben und der Katheter wieder mit Seewasser gefüllt.

Für die Untersuchung des Stoffwechsels wurden die Tiere nach der Entnahme der Coelomflüssigkeit wie unter 2.2.1. beschrieben präpariert.

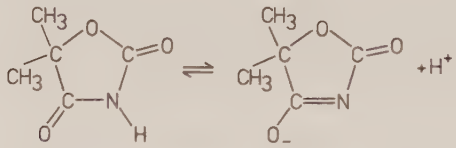
2.3.5. Bestimmung des O_2-Partialdruckes im Coelom in Abhängigkeit vom äußeren O_2-Partialdruck

Die Abhängigkeit des O_2-Partialdruckes im Coelom vom äußeren Partialdruck wurde sowohl an großen Tieren aus Locquémeau als auch an kleinen Tieren aus Morgat untersucht. Die Tiere wurden zunächst wie unter 2.3.1. beschrieben katheterisiert und 24 h aerob bei 15° C in einem geschlossenen, schwarzen Plexiglasbehälter mit ca. 14 l künstlichem Seewasser gehältert. Die Äquilibrierung mit verschiedenen O_2-Partialdrucken erfolgte mit Gemischen aus den reinen Gasen O_2 und N_2, die mit Hilfe von Wösthoff-Gasmischpumpen hergestellt wurden. Nach spätestens 3 h war das Äquilibrium erreicht. Anschließend wurde der O_2-Partialdruck im Coelom bestimmt. Um Auswirkungen einer eventuell auftretenden Sauerstoffschuld zu vermeiden, wurden zunächst die Messungen bei hohen O_2-Partialdrucken durchgeführt. Der O_2-Partialdruck im Seewasser wurde schließlich stufenweise so lange erniedrigt, bis im Coelom kein Sauerstoff mehr meßbar war.

2.3.6. Bestimmung des intrazellulären pH-Wertes (pH_i)

Die von Waddell und Butler (1959) entwickelte Methode der Bestimmung des pH_i-Wertes beruht auf der Gleichgewichtsverteilung von 5,5-Dimethyloxazolidin-2,4-dion (DMO) zwischen Extra- und Intrazellulärraum entsprechend dem pH-Gradienten. Sie eig-

net sich aufgrund der Zeit, die für das Erreichen der Gleichgewichtsverteilung benötigt wird, nur für die Bestimmung relativ langfristiger Änderungen im intrazellulären pH-Wert.



5,5-Dimethyloxazolidin-2,4-dion

Die Methode geht von der Annahme aus, daß die undissoziierte Form der schwachen Säure DMO frei zwischen den Räumen permeiert, während die dissoziierte Form Zellmembranen nicht passieren kann. Für die Bestimmung des intrazellulären pH-Wertes ist also die Messung des extrazellulären pH-Wertes und die Ermittlung des Konzentrationsunterschiedes von DMO zwischen Intra- und Extrazellulärraum wichtig. Die intrazelluläre DMO-Konzentration kann aus den meßbaren DMO-Konzentrationen im Gewebewasser und im Extrazellulärraum (Coelomplasma) unter Einbeziehung des Extrazellulärvolumens im Gewebe berechnet werden. Das Extrazellulärvolumen im Gewebe läßt sich experimentell mit Hilfe des nicht in das Zellinnere permeierenden Inulin bestimmen. Die Konzentrationsmessungen erfolgten nach Heisler (1975) und Heisler et al. (1976 a) durch radioaktive Messung als ^{14}C-DMO und ^{3}H-Inulin.

a) Inkubation

Der pH_i wurde an Ganztieren untersucht. Kleine Tiere wurden gewogen und katheterisiert (s. 2.5.1.1.). Etwa 3 h vor Versuchsende wurde den Tieren über den Katheter ein Gemisch aus ^{14}C-DMO und ^{3}H-Inulin (0,05 µCi ^{14}C-DMO und 0,1 µCi ^{3}H-Inulin) injiziert und der Katheter anschließend mit 0,5 ml Seewasser, nach einer Stunde noch einmal mit 0,3 ml Seewasser gespült. Die Substanzen konnten nicht vor 3 h vor Versuchsende gegeben werden, da sich das ^{3}H-Inulin bei vorhergegangenen Versuchen

während 24 h Stunden Versuchsdauer als instabil erwiesen hatte und somit eine korrekte Bestimmung des Extrazellulärvolumens in Frage gestellt war. Die Zeit von ca. 3 h war jedoch ausreichend für das Erreichen des Gleichgewichtes (s.a. Cohen und Iles, 1975; Roos und Boron, 1981, die für die Verteilung von DMO bei Ganztieren Zeiten von 1-4 h nennen).

b) Präparation, Extraktion und Messung

Vor der Aufarbeitung der Tiere wurden zunächst pH und CO_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit bestimmt. Zusätzlich wurde ca. 1 ml Coelomflüssigkeit abgenommen und in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß zentrifugiert. Zur Bestimmung des Gehaltes an markierten Verbindungen wurden 100 µl des Coelomplasmas auf vorgefertigte Filterpapierpillen gegeben.

Nach der Abnahme der Coelomflüssigkeit wurden die Tiere wie unter 2.2.1. beschrieben präpariert. Hautmuskelschlauch und Retraktoren wurden getrennt und der verwandte Hautmuskelschlauch in sechs Stücke zerschnitten. Das Gewebe wurde abgespült und auf Filterpapier abgetupft. Die Hautmuskelschlauchteile und je zwei Retraktoren wurden gewogen, 24 h bei 110° C getrocknet und wiederum gewogen, um den Wassergehalt zu bestimmen. Die getrockneten Gewebeproben wurden in Filterpapierpillen gepreßt.

Die Filterpapierpillen wurden in einem Packard Automatic Oxidizer (Modell 306) unter reinem Sauerstoff verbrannt. ^3H_2O wurde in einer Kühlfalle aufgefangen und mit Szintillationsflüssigkeit (Monophase 40) ausgespült. $^{14}CO_2$ wurde über Carbosorb 2 der Firma Packard geleitet und ebenfalls mit Szintillationsflüssigkeit (Permafluor 5) ausgewaschen. Die Auszählung erfolgte in einem Flüssigkeits-Szintillationszähler (Typ 2660 der Packard Instrument Company, Illinois, USA).

c) Berechnungen

Grundlegende Annahme ist, daß die Konzentrationen der undissoziierten Form HDMO im Intra- (i) und Extrazellulärraum (e)

gleich sind:

$$(1) \quad [HDMO]_i = [HDMO]_e$$

Für beide Räume gilt die Henderson-Hasselbalch-Gleichung:

$$(2) \quad pH_i = pK' + \log \frac{c_i - [HDMO]_i}{[HDMO]_i}$$

$$(3) \quad pH_e = pK' + \log \frac{c_e - [HDMO]_e}{[HDMO]_e}$$

K' : Säurekonstante von HDMO, pK' = 6,234 bei 15° C (Heisler et al., 1976 a)

c : Gesamtkonzentration $[HDMO] + [DMO^-]$

Durch Umformung von Gleichung (3) ergibt sich:

$$(4) \quad [HDMO]_e = \frac{c_e}{(10^{\,pH_e - pK' + 1})}$$

Da Gleichung (1) gilt, ergibt sich, eingesetzt in Gleichung (2), für die Berechnung des intrazellulären pH-Wertes:

$$(5) \quad pH_i = pK' + \log\left[\frac{c_i}{c_e} \; (10^{pH_e - pK' + 1}) - 1\right]$$

Der extrazelluläre pH-Wert und die DMO-Konzentration im Extrazellulärraum (Coelomplasma) c_e $([HDMO] + [DMO^-])$ wurden gemessen. Die DMO-Konzentration in der Zelle c_i wurde nach experimenteller Ermittelung des Wassergehaltes und des anteiligen Extrazellulärvolumens Q im Gewebe berechnet. Q ergibt sich als Verhältnis zwischen den Volumina des extrazellulären Gewebswassers (V_{eG}) und des Gesamtgewebswassers (V_G) aus dem Quotienten der Inulinkonzentrationen im Gesamtgewebswasser und im Coelomplasma:

$$Q = \frac{V_{eG}}{V_G} = \frac{[Inulin]_{Gewebswasser}}{[Inulin]_{Coelomplasma}}$$

Die intrazelluläre DMO-Konzentration ergibt sich nach Abzug der im Extrazelluläranteil des Gewebes vorliegenden DMO-Menge von der Gesamtmenge im Gewebe:

$$c_i = \frac{c_{Gewebe} - Q \times c_e}{(1 - Q)}$$

Für das anteilige Extrazellulärvolumen Q und den Wassergehalt ergaben sich als Bruchteil von 1 folgende Werte (n = 5):

Muskulatur	Bedingung	Q	Wassergehalt
HMS	Luft	0,273 ± 0,058	0,792 ± 0,018
	N_2	0,256 ± 0,046	
Retraktoren	Luft	0,271 ± 0,093	0,820 ± 0,020
	N_2	0,248 ± 0,072	

2.3.7. Bestimmung des O_2-Gehaltes in der Coelomflüssigkeit, Sauerstoffbindungskurve

a) Messung des O_2-Gehaltes

Die Bestimmung des Sauerstoffgehaltes in der Coelomflüssigkeit von *Sipunculus nudus* erfolgte polarographisch nach chemischer Freisetzung des an das respiratorische Pigment Haemerythrin gebundenen Sauerstoffes. Bei der Messung wurde eine nach Bridges et al. (1979) modifizierte Meßkammer (Tucker chamber, Tucker, 1967) verwandt. Das Volumen der auf 32° C temperierten Kammer betrug 0,5 ml.

Die O_2-Messung erfolgte wie unter 2.3.3./4. beschrieben. Die Elektrode wurde mit einer temperierten, sauerstofffreien Eichlösung und ebenfalls temperiertem, luftgesättigtem Rea-

gens kalibriert. Das Reagens (nach Tucker, 1967) bestand aus 6 g/l Kaliumhexacyanoferrat (III) zur Freisetzung des Sauerstoffs vom Haemerythrin (vergl. Florkin, 1933), 3 g/l Saponin zur Zelllysis sowie spurenweise n-Octanol.

Vor der Bestimmung des O_2-Gehaltes in einer Probe wurde das Reagens mit Stickstoff durchperlt. Die Kammer wurde mit der sauerstoffarmen Lösung gefüllt und mit einer Glasperle verschlossen. Der sich ergebende O_2-Partialdruck wurde unter Rühren gemessen und aufgezeichnet. Anschließend wurden 50 µl Coelomflüssigkeit unter Verdrängung des entsprechenden Teiles Reagens injiziert und die Veränderung des O_2-Partialdruckes mit dem Schreiber verfolgt.

b) Berechnung des O_2-Gehaltes

Unter Berücksichtigung des Löslichkeitskoeffizienten von Sauerstoff im Reagens, der Veränderung des O_2-Partialdruckes bei Zugabe der Coelomflüssigkeit und des Kammervolumens wurde der O_2-Gehalt entsprechend folgender Gleichung errechnet:

$$Cp_{O_2} : \frac{\alpha_r}{760} \times \frac{V}{v} \times 100 \, (P(r+p)_{O_2} - \frac{V - v}{V} \times Pr_{O_2})$$

Cp_{O_2} : O_2-Gehalt in ml O_2/100 ml Coelomflüssigkeit

Pp_{O_2} : O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit(sprobe) (Torr)

Pr_{O_2} : O_2-Partialdruck im Reagens (Torr)

α_r : Löslichkeitskoeffizient für O_2 im Reagens bei 32° C

α_r = 0,0252 (l/l x atm) STPD (Tucker, 1967)

V : Kammervolumen (0,5 ml)
v : Probenvolumen (0,05 ml)

Die an das Haemerythrin gebundene Sauerstoffmenge ergibt sich bei Abzug des bei 15° C physikalisch in der Coelomflüssigkeit

gelösten Sauerstoffs (s. 2.3.2.).

c) Anwendung: Sauerstoffbindungskurve

Die geschilderte Methode zur O_2-Gehaltsmessung wurde bei der Aufstellung der O_2-Bindungskurve des Haemerythrins verwandt. Es wurden zwei O_2-Bindungskurven erstellt:

I. *in vitro* durch Tonometrie isolierter Coelomflüssigkeit
II. *in vivo* durch Entnahme von Coelomflüssigkeitsproben aus Tieren, die unter verschiedenen O_2-Partialdrucken gehältert wurden und unterschiedliche O_2-Partialdrucke im Coelom aufwiesen.

Zur Tonometrie isolierter Coelomflüssigkeit wurde ein Tonometer (Modell 273, Instrumentation Laboratory, Padorno Dugano, Italien) verwandt, das auf 15° C temperiert war. Von fünf großen, aerob in künstlichem Seewasser gehälterten Tieren wurde je 1 ml Coelomflüssigkeit entnommen. Die Proben wurden im Tonometer vereinigt und gemischt. Mit Hilfe einer Hämatokritzentrifuge der Firma Christ, Osterode, wurde anschließend der Hämatokrit als Volumenanteil rot-violett gefärbter Zellen in der Coelomflüssigkeit bestimmt. Die bei der Tonometrie verwandten, wassergesättigten Gasgemische wurden mit Hilfe von Wösthoff-Gasmischpumpen hergestellt. Der CO_2-Partialdruck betrug konstant ca. 1,5 Torr, der O_2-Partialdruck wechselte zwischen 0 und 140 Torr unter entsprechender Beimischung von Stickstoff. Die Äquilibrierung mit dem jeweiligen Gasgemisch wurde für 30 min durchgeführt.

Die Abhängigkeit der Sauerstoffbindung des Haemerythrins vom O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit *in vivo* wurde an drei großen Tieren untersucht. Vor Versuchsbeginn wurden sie katheterisiert und 24 h unter normoxen Bedingungen in künstlichem Seewasser bei 15° C gehältert. Sie befanden sich dabei unter Lichtabschluß in einem geschlossenen Plexiglasbehälter. Anschließend wurde mit $O_2/N_2/CO_2$-Gasgemischen unterschiedlichen Sauerstoffgehaltes (P_{CO_2} = konst. 1,5 Torr) begast. Die Proben wurden zu verschiedenen Zeiten bei unter-

schiedlichen O_2-Partialdrucken im Wasser genommen. In jeder Probe wurden O_2-Partialdruck, O_2-Gehalt und Hämatokrit bestimmt. In der Annahme, daß der Haemerythringehalt dem Gehalt an rot-violetten Zellen proportional ist, wurden alle Werte auf einen Hämatokrit von 7 % korrigiert.

d) Auswertung

Da die ermittelten O_2-Bindungskurven einen offensichtlich hyperbolischen Verlauf nahmen (s.3.3.1.), wurde die Sauerstoffbindungskapazität des Haemerythrins durch doppelt reziproke Auftragung der Volumenanteile gebundenen Sauerstoffs und physikalisch gelösten Sauerstoffs ermittelt.

Mit Hilfe eines Hill-Diagramms wurden die ermittelten Bindungsverhältnisse auf kooperative Effekte untersucht. Hierzu wurde der Quotient S/1 - S (S: Sättigung mit Sauerstoff als Bruchteil von 1) logarithmisch gegen den O_2-Partialdruck aufgetragen. Der als Steigung der sich ergebenden Geraden ermittelte Hill-Koeffizient n gibt Auskunft über die Neigung der Kurve zur Sigmoidität und damit über bei der O_2-Bindung auftretende kooperative Effekte:

$$\frac{S}{1-S} = \frac{P_{50}^{\,n}}{K'} \qquad \log\frac{S}{1-S} = n \times \log P_{50} - \log K'$$

Der Punkt halbmaximaler Sättigung (P_{50}) ergibt sich als Schnittpunkt der Geraden mit der Linie:

$$\log\frac{S}{1-S} = 0$$

2.3.8. Untersuchung der Pufferverhältnisse in Coelomflüssigkeit und Gewebe

Der Pufferwert β wurde von van Slyke (1922) als diejenige Menge an OH^- oder H^+ bezeichnet, die, zu einem Volumen oder einer Masseneinheit einer Lösung hinzugefügt, eine pH-Änderung um eine Einheit verursacht. Beschränkt man sich mit Heisler und Piiper (1971) auf den Pufferwert der Nicht-Bicarbonatpuffer

β_{NB} in einem Gewebe oder einer Körperflüssigkeit, so läßt sich dieser Wert durch Änderungen des CO_2-Partialdruckes und Bestimmung der resultierenden Bicarbonatkonzentration ermitteln. Definitionsgemäß gilt:

$$\beta_{NB} = - \frac{\Delta [HCO_3^-]}{\Delta \text{ pH}}$$

Die Bestimmung des Nicht-Bicarbonat-Pufferwertes von Coelomflüssigkeit oder Gewebe erfolgte also durch Analyse des CO_2-Bindungsvermögens. Hierfür wurden Coelomflüssigkeit bzw. Gewebehomogenat im Tonometer mit verschiedenen CO_2-Partialdrucken äquilibriert und für jeden vorgegebenen P_{CO_2} der pH-Wert und der CO_2-Gehalt in den Proben bestimmt.

a) Tonometrie der Coelomflüssigkeit

Die Tonometrie der Coelomflüssigkeit wurde mit insgesamt 5 ml Coelomflüssigkeit durchgeführt, die von 5 großen Tieren gewonnen wurden. Der Hämatokrit betrug 7 %. Der O_2-Partialdruck betrug bei der Äquilibrierung konstant 22 Torr. Der CO_2-Partialdruck wechselte von 0,7 bis 11 Torr unter entsprechender Beimischung von Stickstoff. Die Äquilibrierung erfolgte jeweils über 20 min. In Vorversuchen vorgenommene pH-Messungen wiesen diese Zeit als ausreichend aus.

b) Tonometrie des Gewebehomogenates

Die Bestimmung des Pufferwertes im Gewebe erfolgte modifiziert nach Heisler und Piiper (1971). Das Gewebe wurde in isotonischem Medium homogenisiert, dessen Zusammensetzung aufgrund der Untersuchungen von De Jorge et al. (1970) an *Sipunculus natans* und *Sipunculus multisulcatus* gewählt worden war. Das Medium enthielt (in meq/l): K^+, 53; Ca^{2+}, 10,8; Mg^{2+}, 32,9; Na^+, 519,63; SO_4^{2-}, 32,9; Cl^-, 597,9; $H_2PO_4^-$, 1,2; HCO_3^-, 2,33. Die eingewogene Bicarbonatmenge wurde unter Verwendung ermittelter Ruhewerte des intrazellulären pH (s.3.7.2.) nach Henderson-Hasselbalch berechnet. 5 tiefgefrorene Hautmuskelschlauchteile etwa gleichen Gewichtes von kleinen Tieren, die sich im Ruhezustand befanden, wurden unter flüssigem Stickstoff in einem Mörser zerrieben, im

5,5-fachen Volumen Homogenisationsmedium aufgenommen und 3 x 30 sec unter Kühlung im Eis am Ultra-Turrax homogenisiert. Die Aufnahme des Gewebes in einer geringeren Menge Homogenisationsmedium erwies sich als nicht möglich, da die Viskosität des Homogenates zu groß war. Bei der Tonometrie wechselte der CO_2-Partialdruck von 0,3 bis 3 Torr unter entsprechender Beimischung von reinem Sauerstoff. Die Äquilibrierung erfolgte in der Reihenfolge: mittlerer CO_2-Partialdruck (P_{CO_2}) - niedriger (hoher) P_{CO_2} - hoher (niedriger) P_{CO_2} - mittlerer P_{CO_2}. Jede Äquilibrierung erfolgte über 30 min. In Vorversuchen vorgenommene pH-Messungen wiesen diese Zeit als ausreichend aus. Vollmomogenate, die älter als 2,5 h waren, wurden nicht mehr verwandt.

Die Messungen wurden zweimal mit weiteren Hautmuskelschlauchteilen der gleichen Tiere (unter flüssigem Stickstoff gelagert) wiederholt. In der gleichen Weise wurden die vereinigten Retraktoren von 5 kleinen Tieren homogenisiert und analysiert, um festzustellen, ob der Pufferwert der Retraktoren dem des Hautmuskelschlauches entspricht.

c) Messung des CO_2-Gehaltes

Der CO_2-Gehalt in der Coelomflüssigkeit bzw. im Gewebehomogenat wurde nach Cameron (1971) in einer Meßkammer aus Glas gemessen. Das Volumen der temperierten Kammer betrug 2 ml. Als Reagens zur Freisetzung von gebundenem CO_2 wurde 0,1 N HCl verwandt, die eine Spur von n-Octanol enthielt. Der Standard enthielt bei der Tonometrie der Coelomflüssigkeit 10 mmol/l $NaHCO_3$, bei der Tonometrie des Gewebehomogenates 5 mmol/l der gleichen Substanz. Die CO_2-Messung wurde bei 40° C wie unter 2.3.4. beschrieben durchgeführt. Die Kammer wurde mit vortemperiertem Reagens gefüllt. Anschließend wurden 25 µl Standard hinzugefügt, um einen konstant bleibenden pH-Wert als Ausgangswert zu erreichen. Bei der Zugabe von weiteren 25 µl Standard wurde die pH-Änderung aufgezeichnet. Anschließend wurden 25 µl Coelomflüssigkeit bzw. Homogenat mit einer gasdichten Spritze aus dem Tonometer in die Meßkammer überführt und die erneute Änderung des pH verfolgt.

Zur Auswertung wurde die zugegebene Menge an CO_2 halblogarithmisch gegen den pH aufgetragen und der CO_2-Gehalt in der Probe

graphisch ermittelt. Die Verdünnung des Reagens durch die Zugabe der Probe wurde dabei vernachlässigt, da der resultierende Fehler sehr gering war (<2%). Die als Bicarbonat gebundene CO_2-Menge wurde durch Abzug des physikalisch gelösten CO_2 bestimmmt.

d) Berechnungen

Der Nicht-Bicarbonat-Pufferwert wurde als Änderung der Bicarbonatkonzentration pro pH-Einheit bestimmt.

$$(1) \quad \beta_{NB} = - \frac{\Delta \left[HCO_3^-\right]}{\Delta \text{ pH}} \quad \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{pH x ml}}\right) \quad \text{bzw.} \quad \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{pH x g FG}}\right)$$

Der Pufferwert β_{NB} der Coelomflüssigkeit wurde als Steigung der Puffergeraden im pH-Bicarbonat-Diagramm (s. Abb. 59, S.163) ermittelt.

Änderungen des pH-Wertes im Gewebehomogenat, die nicht auf Änderungen des CO_2-Partialdruckes zurückzuführen waren, wurden durch Mittelung der pH- und Bicarbonatwerte vor (1) und nach (3) der Äquilibrierung bei hohem (oder niedrigem) CO_2-Partialdruck (2) berücksichtigt. Der Pufferwert b_H des Homogenates errechnete sich nach:

$$(2) \quad b_H = - \frac{0{,}5 \left(\left[HCO_3^-\right]_1 + \left[HCO_3^-\right]_3\right) - \left[HCO_3^-\right]_2}{0{,}5 \quad (pH_1 + pH_3) \quad - \quad pH_2}$$

Der Pufferwert des Homogenatwassers b_{HW} ergab sich nach:

$$(2a) \quad b_{HW} = b_H \times \frac{1}{F_G \times F_{GW} + F_{HM}}$$

F_G : Gewebefraktion ($= \frac{1}{f}$, s. Gl. (4))

F_{GW} : Gewebewasserfraktion (0,792, s. 2.3.6.)

F_{HM} : Anteil des Homogenisationsmediums ($= 1 - \frac{1}{f}$)

Bei Abzug des Pufferwertes für das im Homogenisationsmedium enthaltene $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$ ergab sich b'_H bzw. b'_{HW} als Pufferwert der Nicht-Bicarbonat-Puffer im Homogenat. Der Pufferwert

einer Einzelsubstanz B errechnete sich nach:

$$(3) \qquad \beta = \frac{2{,}303 \left[H^+\right] \times K_s' \times c}{(K_s' + \left[H^+\right])^2} \quad \left(\frac{\text{mmol}}{1 \times \text{pH}}\right)$$

K_s' : Säurekonstante, für $H_2PO_4^-$: $K_s' = 10^{-6{,}81}$ (Netter,1959) bestätigt durch Barrow et al. (1980) an *Tapes watlingi*

c : Konzentration $\left[B\right] + \left[BH^+\right]$ (mmol/l)

Zwischen pH = 7,244 und pH = 7,338 ergaben sich für $\beta_{H_2PO_4^-}$ im Homogenat Werte zwischen 0,457 und 0,418.

Der Pufferwert des Muskels ergab sich aus dem Nicht-Bicarbonat-Pufferwert b' des Homogenates und dem Verdünnungsfaktor f:

$$4) \qquad \beta_{NB} = b_H' \times f \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{pH} \times \text{g FG}}\right) ; \quad f = \frac{W_{MW} + W_{HM}}{W_M}$$

W_{MW} : Gewicht des Muskelwassers

W_{HM} : Gewicht des Homogenisationsmediums

W_M : Gewicht des Muskels

Der Anteil des Gewebswassers und des Extrazellulärwassers wurde im Rahmen der Bestimmungen des intrazellulären pH-Wertes ermittelt (s. 2.3.6.). Damit ließ sich β_{NB} auch für das Muskelwasser und für das Zellwasser angeben.

Der effektive Beitrag, der von einem Puffersystem während eines experimentellen Zeitraumes bei der Aufnahme oder Abgabe von H^+ geleistet wird, wurde als die Pufferung P bezeichnet. Die Pufferung P_{NB} der Nicht-Bicarbonat-Puffer entspricht dabei dem Pufferwert β_{NB}.

Die Gesamt-Pufferung des Gewebes bzw. der Coelomflüssigkeit ergab sich dementsprechend aus β_{NB} und der Bicarbonat-Pufferung. Letztere ließ sich nach Henderson-Hasselbalch aus der anfänglichen Bicarbonatkonzentration und der pH-Änderung z.B. bei Aktivität oder extremer Hypoxie errechnen:

$$(5) \quad P_{Bic} = \frac{\Delta\left[HCO_3^-\right]}{\Delta\ \text{pH}} = \frac{\left[HCO_3^-\right] \times \left(10^{\Delta pH} \times \frac{(P_{CO_2})_2}{(P_{CO_2})_1} - 1\right)}{\Delta\ \text{pH}}$$

dabei gilt: $\Delta pH = pH_2 - pH_1$

Für die Gesamt-Pufferung P_{tot} gilt: (6) $P_{tot} = \beta_{NB} + P_{Bic}$

Die in dem jeweiligen Kompartiment vorliegende Bicarbonatkonzentration ließ sich bei bekanntem pH, CO_2-Partialdruck, Löslichkeitskoeffizienten für CO_2 und pK'_S für H_2CO_3 mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung berechnen. Extra- und intrazellulärer pH sowie der CO_2-Partialdruck im Coelom wurden gemessen (s. 2.3.4., 2.3.5.). Der CO_2-Partialdruck wurde auch für das Gewebe als zutreffend angenommen. Der Löslichkeitskoeffizient von CO_2 im Seewasser wurde mit α = 0,051 µmol/ml x Torr auch für Coelomflüssigkeit, Gewebehomogenat und Gewebe angewandt (s. 2.3.2.). Der pK'_S-Wert wurde für die Coelomflüssigkeit und für das Gewebehomogenat nach Henderson-Hasselbalch berechnet. In diese Berechnung gingen die bei der Tonometrie experimentell in Abhängigkeit vom CO_2-Partialdruck ermittelten Bicarbonatwerte ein (s.o. a,b,c). Der für das Gewebehomogenat bestimmte pK'_S-Wert wurde auch für das Zellwasser als zutreffend angenommen.

2.3.9. Vorläufige Bilanz: Anaerobiosestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt

Die unter experimentellen Bedingungen auftretenden Änderungen des pH-Wertes und der Bicarbonatkonzentration sind Ausdruck der Bindung oder Freisetzung von Protonen. Diese Vorgänge können im Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel gesehen werden. So führen z.B. starke Muskeltätigkeit bzw. Entzug von Sauerstoff zu Konzentrationsänderungen von Metaboliten des Intermediärstoffwechsels, die mit einer Bindung oder Freisetzung von Protonen einhergehen und somit den Säure-Basen-Haushalt beeinflussen. Ziel dieser Untersuchungen sollte die Klärung der Frage sein, ob die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt, die während einer Anaerobiose auftreten, durch die Konzentrationsänderungen im Intermediärstoffwechsel erklärbar sind. Das Tier wurde dafür modellhaft betrachtet:

Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt des Hautmuskelschlauches wurden als repräsentativ für das Gesamtgewebe angenommen. Das Tier wurde demensprechend als zwei-kompartimentäres System behandelt. Der Gewebezelle als einem Komparti-

ment (Vernachlässigung der Zellkompartimente) wurde die Coelomflüssigkeit als weiteres Kompartiment (Vernachlässigung der Coelomzellen) gegenübergestellt. Die Berechnungen wurden für jedes der Kompartimente durchgeführt:

Bei Betrachtung der Änderungen im Säure-Basen-Haushalt errechnet sich die Menge der in einem Kompartiment gebundenen oder freigesetzten Protonen ΔH^+ nach:

$$(1) \quad \Delta H^+ = -P_{tot} \times \Delta pH \ (\frac{mmol}{l})$$

Bei getrennter Betrachtung der vom Nicht-Bicarbonat-Puffer gebundenen oder freigesetzten Protonen und der Änderungen des Bicarbonatgehaltes lassen sich die metabolisch bedingten Änderungen der H^+-Konzentration berechnen (vergl. McDonald et al., 1979):

$$(2\,a) \quad \Delta H^+_{met.} = -\beta_{NB} \times \Delta pH - \Delta [HCO_3^-] \quad (\frac{mmol}{l})$$

Respiratorisch bedingte Änderungen im Säure-Basen-Haushalt, d.h. Änderungen, die auf einen Anstieg oder eine Abnahme des P_{CO_2} zurückzuführen sind, werden bei dieser Form der Berechnung nicht erfaßt. Dies ergibt sich aus einer Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes, wie sie von Davenport (1974, s. auch Wood et al., 1977) diskutiert wird. Die Menge der respiratorisch gebundenen oder freigesetzten Protonen läßt sich durch eine graphische Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes ermitteln. Dabei wird der pH graphisch bestimmt, der sich entlang der Puffergeraden ausgehend vom Ruhewert theoretisch bei einer gemessenen Änderung des P_{CO_2} ergibt. Es gilt:

$$(2\,b) \quad \Delta H^+_{resp.} = -\beta_{NB} \times \Delta pH_{resp.} \ (\frac{mmol}{l})$$

Die Berechnung nach (2 a und b) gilt für den Fall, daß der Nicht-Bicarbonat-Pufferwert während des betrachteten Experi-

mentes konstant bleibt. Dies wurde für die Coelomflüssigkeit als zutreffend vorausgesetzt. Für das Gewebe wurde dagegen postuliert, daß das bei der Hydrolyse des Phospho-L-Arginins abgespaltene Phosphat (pK'_s = 6,81) quantitativ zur Pufferung im Intrazellulärraum beiträgt. Dementsprechend wurde der Pufferwert des Phosphates, der bei einem gemessenen Wert des intrazellulären pH zu erwarten ist, dem nach 2.3.8. ermittelten intrazellulären Pufferwert addiert und so der zum Versuchszeitpunkt vorliegende effektive Pufferwert ermittelt. Zur Korrektur wurde der Pufferwert der hydrolysierten Menge Phospho-L-Arginin unter Anwendung des pK_s der gebundenen Phosphatgruppe abgezogen (pK_s = 4,5):

(3) $\beta_{NB\ eff} = \beta_{NB} + b_{Ph} - b_{PLA}$

$\beta_{NB\ eff}$: effektiver Nicht-Bicarbonat-Pufferwert

b_{Ph} : Pufferwert des anorganischen Phosphates

b_{PLA} : Pufferwert der Phosphatgruppe des Phospho-L-Arginins

Auf diese Weise konnte die Menge an gebundenen oder freigesetzten Protonen in der Gewebezelle berechnet werden:

(4) $\Delta H^+ = -\beta_{NB\ eff} \times \Delta pH - \Delta [HCO_3^-]$ $\left(\frac{mmol}{l\ Zellwasser}\right)$

Aus den für jedes Kompartiment berechneten Änderungen wurde das ΔH^+ zusammenfassend für den Gesamtorganismus in mmol/l Körperwasser berechnet. Der Anteil der Coelomflüssigkeit wurde hierbei entsprechend 2.2.1. und 2.3.6. mit 52 %, der Anteil des Gesamtgewebswassers mit 38 % veranschlagt. Zu dem Anteil der Coelomflüssigkeit wurde der Extrazelluläranteil des Gewebswassers addiert. Er beträgt am Gesamtkörperwasser 10 %.

(5) $\Delta H^+_{GK} = 0,62 \times \Delta H^+_{Coel} + 0,727 \times 0,38 \times \Delta H^+_{Zelle}$

(mmol/l Körperwasser)

GK : Gesamtkörper
Coel : Coelomflüssigkeit
0,727 : Umrechnungsfaktor mmol/l Zellwasser in mmol/l Gewebswasser (s. 2.3.6.)

Dem aus Pufferwert, pH-Änderung und Änderung in der Bicarbonatkonzentration berechneten ΔH^+ wurde die H^+-Menge gegenübergestellt, die sich aus den Änderungen der Metabolitkonzentrationen ergibt. Die Konzentrationsänderungen Δc in Hautmuskelschlauch und Coelomflüssigkeit als den beiden betrachteten Kompartimenten wurden zunächst für jeden Metaboliten in mmol/ l Körperwasser berechnet:

$$(6) \quad \Delta c_{GK} = 0{,}52 \times \Delta c_{Coel} + 0{,}38 \times \frac{\Delta c_{Gewebe}}{0{,}792} \quad \text{(mmol/l Körperwasser)}$$

GK, Coel : s.o. (5)
0,792 : Umrechnungsfaktor µmol/g Frischgewicht in mmol/l Gewebswasser (s. 2.3.6.)

Die in das Inkubationswasser ausgeschiedenen Metabolite wurden nicht berücksichtigt.

Zunächst wurden die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt als Folge einer Eigendissoziation der Metabolite betrachtet. Für die Berechnung der bei Konzentrationsab- oder -zunahme gebundenen oder freigesetzten Protonen wurden folgende pK_s-Werte verwandt:

Tab.2: pK_s-Werte wichtiger Metabolite des Anaerobiosestoffwechsels

Metabolit	pK_s	µ	Quelle
Phospho-L-Arginin	2,8; 4,5; 9,6; 11,2	?	Sober, 1973
L-Arginin	1,85; 9,27; 12,48	0	" "
H_3PO_4	1,99; 6,81; 11,75	0,1	Netter, 1959
Octopin	1,36; 2,40; 8,76; 11,3	0	Sober, 1973
Aspartat	2,05; 3,94; 10,30	?	" "
Alanin	2,38; 10,23	0	" "
Malat	3,48; 5,096	0	" "
Succinat	4,23; 5,64	0	" "
Acetat	4,76	0	" "
Propionat	4,87	0	" "

Allein für den pK_2 der Phosphorsäure ist es ausschlaggebend, den apparenten pK'_s -Wert zu verwenden. Für pK-Werte, die stark vom Neutralpunkt abweichen, bedeutet die Verwendung der thermodynamischen Konstanten eine vernachlässigbare Ungenauigkeit. Die Berechnung des Dissoziationsgrades erfolgte mit Hilfe der Henderson-Hasselbalch-Gleichung:

$$pH = pK'_s + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Unter Berücksichtigung dieser Berechnungen wurde die im Energiestoffwechsel stattfindende H^+-Produktion auf der Grundlage folgender Überlegungen ermittelt:

- Essigsäure, Propionsäure und Asparaginsäure liefern in neutraler Lösung durch nahezu 100 % Dissoziation 1 mol H^+/mol. Bernsteinsäure und Äpfelsäure liefern ca. 2 mol H^+/mol.
- Octopin liefert, in undissoziierter Form gelöst, bei einem pH_i von 7,32 (s. 3.7.2.) nur 0,036 mol H^+/mol (s.a. Zammit, 1978). Bei seiner Bildung im Stoffwechsel führt es jedoch zu einer H^+-Produktion von 1 mol H^+/mol Octopin (s.S.329).
- Phospho-L-Arginin verbraucht bei der Spaltung in Phosphat und L-Arginin durch die Verschiebung des pK'_s der Phosphatgruppe von 4,5 auf 6,81 z.B. 0,38 mol H^+/mol Phospho-L-Arginin bei pH_i = 7,02 oder 0,24 mol H^+/mol PLA bei pH_i = 7,32 (s.S. 327).
- Aspartat geht zu 100 % in den Succinatstoffwechsel ein. Die Aminogruppe wird bei der Transaminierung schließlich unverändert auf Pyruvat übertragen, d.h. für die Überführung von Aspartat in Malat oder Succinat gilt $\Delta H^+ = 0$. Die Bildung von Alanin führt dagegen zu einer H^+-Produktion von 1 mol H^+/mol. Bei der Bildung von Acetat und Propionat aus Aspartat geht eine saure Carboxylgruppe verloren, so daß ein H^+-Verbrauch von 1 mol H^+/mol Acetat bzw. Propionat berechnet werden muß.

Eine zweite Möglichkeit der Bilanzierung von metabolisch gebildeten Protonen bietet die Hypothese, daß die Bildung von sauren Stoffwechselendprodukten nicht durch ihre Anhäufung

und Dissoziation selbst, sondern durch den simultanen Verbrauch des dabei gebildeten Mg-ATP zur Ansäuerung führt. Diese Hypothese folgt den von Gevers (1977) für die Laktatbildung in der Glykolyse bzw. Glykogenolyse angestellten Überlegungen. Ihre Anwendung wird unter 4.3.1.1. im Zusammenhang mit einer Analyse des Stoffwechsels auf die Richtigkeit der hier angeführten Annahmen diskutiert.

2.4. Beobachtungen zur Lebensweise, Aufzeichnung der Aktivität

Eine Voraussetzung für die Konzeption von Experimenten, die sich mit Energiestoffwechsel, Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt in biotopnahen Situationen beschäftigen, sind Kenntnisse über die Lebensweise eines Tieres. Für *Sipunculus nudus* wurden diese Kenntnisse in einer "simulierten" Umgebung gewonnen (s. 3.4.).

2.4.1. Photographie

Das Verhalten der Tiere sollte zunächst einmal optisch verfolgt werden. Hierzu wurde in einem Glasbecken mit ca. 20 l künstlichem Seewasser ein Spalt von ca. 3 cm Breite abgetrennt und zu 3/4 mit Sand gefüllt. Ein in diesen Spalt eingebrachtes Tier grub sich entlang der äußeren Glasscheibe ein und konnte so in seinem Verhalten beobachtet und photographiert werden (s. Abb. 5). Die Aufnahmen (s. 3.4.) wurden mit Canon AE-1, angeschlossenem Winder A, Metz Mecablitz 45 CT 1 und Metz Mecamat 45 CT 1 245 STC unter Verwendung von Automatik-Zwischenringen der Firma Panagor erstellt. Die Beobachtungen wurden an fünf Tieren durchgeführt.

2.4.2. Druckmessungen

Parallel zur Beobachtung des Verhaltens konnten die Bewegungen des als hydraulisches System funktionierenden Tieres (s. Einl.) mit Hilfe von arteriellen Druckaufnehmern vom Typ Gould Statham P_{23} GB (10 V Brückenspannung) verfolgt und aufgezeichnet werden. Der Druckaufnehmer war über einen Katheter mit dem Coelom des Tieres verbunden (s. 2.3.1.) und befand sich außerhalb des Beckens in Höhe des Wasserspiegels (s. Abb. 5). Die Druckänderungen wurden mit Hilfe eines Clevite brush Mark 260 der Firma Gould aufgezeichnet. Die Eichung erfolgte mit einem Druckeichgerät nach Prof. Gauer. Die Aufzeichnung der Druckänderungen wurde auch als quantitatives Maß für die von den Tieren geleistete Arbeit genutzt. Hierfür wurde mit Hilfe eines Integrators (Eigenbau Slama, MPI,

Göttingen) oder durch gravimetrische Auswertung der Aufzeichnungen das Druck x Zeit-Integral gebildet.

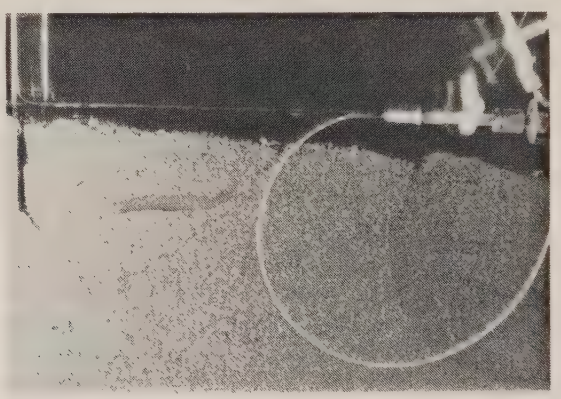


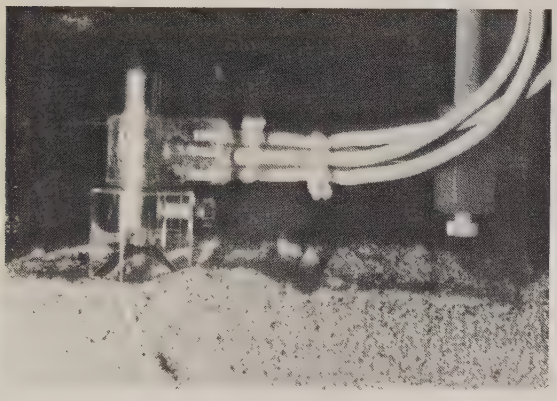
Abb. 5 : Experimentelle Anordnung des Druckaufnehmers neben dem Hälterungsbecken; im Hintergrund ein Exemplar von Sipunculus nudus, das sich im Hälterungsbecken entlang der Scheibe eingegraben hat.

Mit Hilfe der Druckaufzeichnungen konnten typische Bewegungen des Tieres entsprechenden Druckänderungen im Coelom zugeordnet werden. Die Möglichkeit der Druckaufzeichnung wurde deshalb auch zum Teil in den Untersuchungen zu Stoffwechsel, Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt von *Sipunculus nudus* genutzt, da so auch bei nicht beobachtbaren Tieren im Sand die Art, das Ausmaß und der Einfluß der Aktivität auf die zu untersuchenden Parameter verfolgt werden konnten.

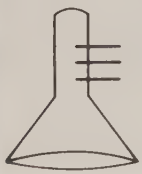
2.4.3. Flußmessungen

Bei den Beobachtungen der Tiere im Sand (s. 2.4.1., 3.4.) wurde festgestellt, daß sie sich nach dem Eingraben um das Vorderende des Körpers eine kleine Höhle anlegten, die über einen Porus in das freie Wasser mündete. Danach wurden von vorne nach hinten laufende peristaltische Kontraktionswellen beobachtet und aufgezeichnet. Um nun die respiratorische

Funktion von Höhle und Peristaltik aufzuzeigen, wurde die Korrelation zwischen Wasserströmung und Peristaltik mit Hilfe eines Einzelthermistors, die Strömungsrichtung mit einer Kombination von drei Thermistoren (s. Abb. 6) und das strömende Wasservolumen mit Hilfe eines Flowmeter-Sensors S-2010 SCR der Fa. Statham (s. Abb. 7) untersucht. Die Aufzeichnung erfolgte mit dem genannten Clevite brush Mark 260. Thermistorkombination und Flowmeter-Sensor wurden mit Hilfe eines Trichters über das Atemloch gebracht (s. Abb. 6 und 7).



a



b

Abb. 6 : Thermistorkombination zur Messung der Strömungsrichtung im Atemloch des Sipunculus nudus (a). Drei Thermistoren befanden sich übereinander im Rohr des Trichters (b). Der mittlere Thermistor heizte das Wasser auf; je nach Strömungsrichtung zeigte der obere oder der untere Thermistor die Temperaturänderung und damit die Strömungsrichtung an.

Parallel erfolgende Druckaufzeichnungen nach 2.4.2. sollten zur Aufklärung des Zusammenhanges zwischen Peristaltik und Wasserströmung beitragen.

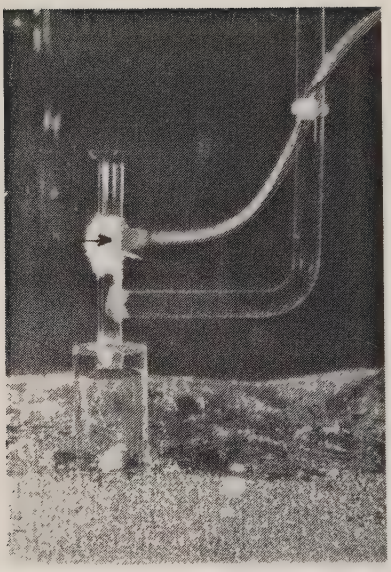


Abb. 7:
Vorrichtung zur Messung des strömenden Wasservolumens. Der Flowmeter-Sensor befand sich etwa in der Mitte des Trichterrohres (⟶).

2.5. Versuchsansätze

2.5.1. Untersuchungen unter Extrembedingungen: Anaerobiose

Auf der Basis vorangegangener Untersuchungen (Grieshaber und Zebe, 1978; Grieshaber und Hitzemann, 1979) wurden in Roscoff im Juli 1979 zwei grundlegende Experimente zum Anaerobiosestoffwechsel von *Sipunculus nudus* wiederholt, um die angegebenen Änderungen in den Konzentrationen verschiedener Metabolite nachzuvollziehen, Unterschiede zwischen Hautmuskelschlauch und Introvertretraktoren herauszuarbeiten und das Spektrum der untersuchten Metabolite zu erweitern. Für beide Experimente wurden kleine Tiere aus der Bucht von Morgat verwandt, die nach dem Sammeln 2 - 3 Wochen in Roscoff unter fließendem Seewasser im Sand gehältert worden waren.

In weiteren Experimenten in Göttingen, Münster und Düsseldorf wurden unter ähnlichen Bedingungen neben dem Stoffwechsel auch Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt untersucht. Diese Experimente wurden mit kleinen und großen Tieren durchgeführt, die von Roscoff nach Münster, Düsseldorf bzw. Göttingen transportiert und dort im Sand in künstlichem Seewasser gehältert worden waren.

2.5.1.1. Anaerobiose im freien Wasser

a) Untersuchung des Energiestoffwechsels

Die einfachste Möglichkeit, für die Tiere eine definierte Situation des Sauerstoffmangels unter Ruhebedingungen zu schaffen, ist ihre Hälterung unter Lichtabschluß in freiem Wasser und die Begasung des Wassers mit reinem Stickstoff. Zur Vorbereitung wurden die Tiere 24 h vor Versuchsbeginn dem Hälterungsbecken entnommen und bei 15° C unter normoxen Bedingungen in Seewasser inkubiert. Um die Grabtätigkeit der lichtempfindlichen Tiere zu unterbinden, wurden die Inkubationsgefäße mit Aluminiumfolie verdunkelt. Nach 24 h wurden die Tiere in mit Stickstoff vorbegaste, ebenfalls abgedunkelte Gefäße überführt. Die Gefäße enthielten je 3 - 4 Tiere in

500 ml Seewasser. Zu unterschiedlichen Zeiten der anaeroben Inkubation wurden die Tiere entnommen und nach 2.2.1. und 2.2.4. aufgearbeitet. Dabei wurden Hautmuskelschlauch und Retraktoren getrennt. Ein Aliquot des Inkubationswassers wurde bis zur Wasserdampfdestillation (s. 2.2.4.3.) eingefroren aufbewahrt.

b) Untersuchung von Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt

Die Untersuchung der Veränderungen des pH-Wertes in Coelomflüssigkeit und Muskelzelle sowie von CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit bei Anaerobiose im freien Wasser wurde an katheterisierten Tieren durchgeführt (s. 2.3.1.), die sich in einem schwarzen Plexiglasbehälter mit relativ großem Wasservolumen (ca. 14 l) befanden. Auf diese Weise konnte ein Wasserwechsel zwischen aerober und anaerober Inkubation und damit eine Störung der Tiere mit Einfluß auf die zu messenden pH-Werte vermieden werden.

I. Kleine Tiere

Zunächst wurden Veränderungen des pH-Wertes in Coelomflüssigkeit und Muskelzelle und des CO_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit an kleinen Tieren untersucht. Der Übergang zur Anaerobiose erfolgte durch Begasung mit Stickstoff. Die Inkubation der Tiere mit ^{14}C-DMO und ^{3}H-Inulin sowie ihre Aufarbeitung nach 24 h Aerobiose und während 24 h Anaerobiose erfolgten wie unter 2.3.6. geschildert.

II. Große Tiere

Die unter I. eingesetzten kleinen Tiere mußten zur Bestimmung des intrazellulären pH für jeden Wert einzeln aufgearbeitet werden. Aus diesem Grund wurde das Experiment mit großen Tieren wiederholt. Große Tiere mit einem Gewicht von 20 - 30 g besitzen ein genügend großes Volumen an Coelomflüssigkeit, um einem Tier mehrere Proben von ca. 0,6 ml (s. 2.3.4.) entnehmen zu können. Während des gesamten Versuchsverlaufes konnten also Änderungen von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck sowie Änderungen in den Konzentrationen verschiedener Metabolite in der Coelom-

flüssigkeit an denselben Tieren verfolgt werden (s. 2.3.4., 2.2.4.). Zunächst wurden die Ruhewerte nach 24 h Normoxie bestimmt. Der Übergang zur Anaerobiose erfolgte durch die Begasung mit Stickstoff.

2.5.1.2. Erholung nach Anaerobiose im freien Wasser

Bei der Untersuchung von Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt während 24 h Anaerobiose stellte sich die Frage, ob diese Zeitspanne der Anaerobiose noch im Bereich dessen liegt, was die Tiere überstehen können, ohne Schaden zu nehmen. Aus diesem Grunde wurde die Erholungsfähigkeit nach 24 h Anaerobiose an katheterisierten großen Tieren untersucht. Die Tiere wurden zunächst 24 h bei 15° C unter Normoxie gehältert. Nach der Bestimmung der Ruhewerte von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit (s. 2.3.4.) erfolgte durch Begasung mit Stickstoff der Übergang zur Anaerobiose. Nach 24 h Anaerobiose und während 24 h Erholung unter Normoxie wurden die Veränderungen in pH, CO_2- und O_2-Partialdruck im Coelom an denselben Tieren verfolgt. Außerdem wurden über den gesamten Versuchsverlauf Coelomflüssigkeitsproben für die Bestimmung verschiedener Metabolite genommen (s. 2.2.4.). Der Beginn der Luftbegasung wurde als Zeitpunkt 0 der Erholung angesehen.

2.5.1.3. Induktion erschöpfender Grabtätigkeit

a) Untersuchungen des Energiestoffwechsels

Der Situation der Anaerobiose unter Ruhebedingungen sollte die Situation extremer Aktivität gegenübergestellt werden. Das erste Experiment hierzu wurde in den Hälterungsbecken der biologischen Station Roscoff durchgeführt. Die Wassertemperatur betrug 17° C. Zur Bestimmung der Ausgangskonzentrationen der zu untersuchenden Metabolite wurden zunächst bis dahin ungestörte Tiere ausgegraben und aufgearbeitet. Weitere Tiere wurden durch wiederholtes Ausgraben gezwungen, intensiv bis zur Erschöpfung zu graben. Ein Grabzyklus wurde durch Ausgraben beendet, wenn nur noch das caudale Ende der Tiere zu sehen war. Der Erschöpfungszustand war nach ca. 15 Grabzyklen erreicht. In diesem Experiment wurden Hautmuskelschlauch und Retraktoren getrennt nach 2.2.1. und 2.2.4. aufgearbeitet.

b) Untersuchungen von Stoffwechsel, Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt

I. Kleine Tiere

In einem weiteren Experiment wurden neben dem Stoffwechsel auch die atemphysiologischen Veränderungen und die Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt untersucht. Hierfür wurden kleine Tiere entsprechend 2.3.1. katheterisiert und 24 h unter Ruhebedingungen und Normoxie in einem auf 15° C temperierten Plexiglasbecken (Fassungsvermögen ca. 14,5 l) mit künstlichem Seewasser und einer Schicht von ca. 10 cm Sand gehältert. Nach der Aufarbeitung von Ruhetieren wurden weitere Tiere durch wiederholtes Ausgraben zu erschöpfender Grabtätigkeit veranlaßt. Die Grabbewegungen wurden nach 2.4.2. aufgezeichnet. Einige Tiere wurden nach 8 - 1o Grabzyklen sofort aufgearbeitet, andere erst nach verschiedenen Zeiten der Erholung im Sand (ohne Atemhöhle, s. 3.4.). Die Beendigung der Grabaktivität wurde also als Zeitpunkt 0 der Erholung angesehen.

Zunächst wurden den Tieren Coelomflüssigkeitsproben zur Be-

stimmung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck entnommen (s. 2.3. 4.). Die weitere Aufarbeitung der Muskulatur und der Coelomflüssigkeit erfolgte nach 2.2.1. und 2.2.4.. Hautmuskelschlauch und Retraktoren wurden nicht getrennt.

II. Große Tiere

Die unter I. eingesetzten kleinen Tiere mußten für jeden Wert einzeln aufgearbeitet werden, um die Metabolitkonzentrationen in der Muskulatur ermitteln zu können. Aus diesem Grund wurde das Experiment mit großen Tieren wie unter I. beschrieben wiederholt. Nach der Bestimmung der Ruhewerte von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit (s. 2.3.4.) wurden die Tiere entsprechend I. zu erschöpfender Grabtätigkeit gezwungen und anschließend Veränderungen in pH, CO_2- und O_2-Partialdruck bestimmt.

2.5.2. Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken

Zur Untersuchung der Abhängigkeit des Stoffwechsels von der O_2-Versorgung wurden kleine Tiere zu je 2 Tieren in 0,5 l künstlichem Seewasser aerob vorinkubiert, das sich in abgedunkelten Gefäßen befand. Nach 24 h Normoxie wurde die Begasung mit Gasgemischen unterschiedlichen O_2-Gehaltes durchgeführt. Die zugeführten Gasgemische wurden mit Hilfe einer Gasmischpumpe der Firma Wösthoff aus den reinen Gasen O_2 und N_2 hergestellt. Die Inkubation bei einem O_2-Partialdruck erfolgte jeweils für 24 h und für 48 h. Anschließend wurden die Tiere nach 2.2.1. und 2.2.4. aufgearbeitet. Hautmuskelschlauch und Retraktoren wurden dabei getrennt.

2.5.3. Untersuchungen unter simulierten natürlichen Bedingungen

Auf der Grundlage der Untersuchungen zur Lebensweise von *Sipunculus nudus* (s. 2.4., 3.4.) wurden Experimente konzipiert, die dazu dienen sollten, zur Aufklärung der Beziehung zwischen Anaerobiosestoffwechsel, Atemphysiologie und Säure-Basen-Haushalt in möglichst biotopnahen Situationen beizu-

tragen. Hierbei wurden folgende Situationen des Sauerstoffmangels ausgewählt (s. 3.5.):

1) Grabtätigkeit, Herstellung einer Atemhöhle
2) erschöpfende Grabtätigkeit
3) Niedrigwasser
4) Tiere im Sand, extreme Hypoxie im Wasser
5) Tiere verschüttet

zu 1) Grabtätigkeit, Herstellung einer Atemhöhle

I. Kleine Tiere

Die Tiere wurden katheterisiert und 24 h ungestört bei 15° C unter Normoxie im Sand gehältert. Anschließend wurden im Ruhezustand befindliche Tiere aufgearbeitet bzw. durch Ausgraben zum Eingraben veranlaßt. Das Grabverhalten wurde durch die Aufzeichnung der Druckschwankungen (s. 2.4.2.) bis zur Fertigstellung der Atemhöhle verfolgt. Einige Tiere wurden direkt nach Beendigung der Grabtätigkeit aufgearbeitet, andere nach verschiedenen Zeiten der Erholung mit Atemhöhle. Die Aufarbeitung der Muskulatur und der Coelomflüssigkeit erfolgte nach 2.3.4., 2.2.1. und 2.2.4.. Retraktoren und Hautmuskelschlauch wurden nicht getrennt. Der Zeitpunkt der Fertigstellung der Atemhöhle wurde als Zeitpunkt 0 der Erholung angesehen.

II. Große Tiere

Die Veränderung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit wurden unter gleichen Bedingungen an großen Tieren untersucht.

zu 2) erschöpfende Grabtätigkeit

Als mögliche natürliche Situation wurde auch eine erschöpfende Grabtätigkeit an der Sedimentoberfläche angesehen, die bei starken, kontinuierlichen Verwerfungen am Meeresgrund oder in der Gezeitenzone auftreten könnte. Die experimentelle Simulation dieser Situation wurde bereits als Extrembedingung unter 2.5.1.3. geschildert. Als ergänzender Aspekt wurde dabei die

Erholung im Sediment bearbeitet. Auch hier wurde das Ende der Aktivität als Zeitpunkt 0 der Erholung angesehen.

zu 3) Niedrigwasser

I. Kleine Tiere

Katheterisierte, kleine Tiere wurden 24 h ungestört bei 15° C unter Normoxie in ca. 10 cm Sand gehältert. Sie besaßen alle vor Versuchsbeginn eine Atemhöhle. Nach der Aufarbeitung von Ruhetieren wurde das überstehende Wasser so abgesogen, daß der Sand wassergesättigt und die Atemhöhlen erhalten blieben. Die Tiere wurden während 24 h Niedrigwasser zu verschiedenen Zeiten aufgearbeitet. Die Aufarbeitung der Muskulatur und der Coelomflüssigkeit erfolgte nach 2.3.4., 2.2.1. und 2.2.4.. Retraktoren und Hautmuskelschlauch wurden nicht getrennt.

II. Große Tiere

Das Experiment wurde mit großen Tieren wiederholt, um auch hier die Proben zur Bestimmung von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit (s. 2.3.4.) über den gesamten Versuchsverlauf von denselben Tieren nehmen zu können.

zu 4) Tiere im Sand, extreme Hypoxie im Wasser

I. Große Tiere

Die katheterisierten Tiere befanden sich zunächst 24 h bei 15° C unter Normoxie in ca. 10 cm Sand (mit Atemhöhle). Nach Bestimmung der Ruhewerte von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit (s. 2.3.4.) erfolgte durch Begasung des überstehenden Wassers mit Stickstoff der Übergang zur Anaerobiose. Das Verhalten von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit wurde über 24 h Anaerobiose an denselben Tieren verfolgt. Außerdem wurden Coelomflüssigkeitsproben für die Bestimmung der Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat genommen (s. 2.2.4.). Nach 24 h Anaerobiose wurde der Hautmuskelschlauch der Tiere aufgearbeitet (s. 2.2.1., 2.2.4.).

II. Kleine Tiere

In einem weiteren Experiment wurde die Veränderung des intrazellulären pH nach 24 h Anaerobiose unter gleichen Bedingungen an kleinen Tieren untersucht (s. 2.3.6.).

zu 5) Tiere verschüttet

Dieser Versuch wurde nur mit großen Tieren durchgeführt. Die katheterisierten Tiere befanden sich 24 h bei 15° C unter Normoxie in ca. 10 cm Sand (mit Atemhöhle). Nach Bestimmung der Ruhewerte von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit (s. 2.3.4.) wurde ein Gitter auf den Sand gelegt (Maschenweite 5 mm) und mit 3-5 cm Sand überschichtet. Anschließend erfolgte durch Begasung des überstehenden Wassers mit Stickstoff der Übergang zur Anaerobiose. Die Veränderungen von pH, CO_2- und O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit wurden für 9 h verfolgt, bis es den Tieren gelungen war, trotz des Gitters den Introvert bis an die Oberfläche zu bringen. Nach 9 h wurden Coelomflüssigkeitsproben für die Bestimmung der Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat genommen.

3. Ergebnisse

3.1. Stoffwechsel unter Extrembedingungen: Anaerobiose

Auf der Grundlage bereits vorliegender Ergebnisse von Grieshaber und Zebe (1978) sowie Grieshaber und Hitzemann (1979) wurden Untersuchungen zum anaeroben Energiestoffwechsel unter zwei definierten Bedingungen durchgeführt (s. 2.5.1.):

a) experimentelle Anaerobiose unter Ruhebedingungen
b) erschöpfende Grabtätigkeit

Daneben wurden wichtige Enzyme des Energiestoffwechsels von *Sipunculus nudus* untersucht, um aus den ermittelten Konzentrationsänderungen verschiedener Metabolite auf eine der Funktionsweise der Muskulatur entsprechende Programmierung des Stoffwechsels schließen zu können.

3.1.1. Veränderungen von Metabolitkonzentrationen während Anaerobiose im freien Wasser

Die Bestimmung der Metabolitkonzentrationen erfolgte im Hautmuskelschlauch, in den Introvertretraktoren und den Coelomzellen, im Coelomplasma und im Inkubationswasser kleiner Tiere. Die Konzentrationen von Succinat, Propionat, Acetat, Aspartat, Malat, L-Alanin, D-Alanin, D- + L-Alanin, ATP, ADP, AMP, Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin sind in den Tabellen 3 - 8 zusammengestellt. Als Ruhetiere (0h Anaerobiose) gelten Tiere, die 24 h in normoxem Seewasser gehältert worden waren.

a) Konzentrationsänderungen in Hautmuskelschlauch und Retraktoren

Abb. 8 zeigt die Konzentrationsänderungen von Succinat, Propionat und Acetat in Hautmuskelschlauch und Retraktoren von *Sipunculus nudus* während 48 h Anaerobiose (s.a. Tab. 3).

Die Konzentrationsänderungen des Succinats (a) waren in beiden Geweben gleichläufig. Eine Phase der Succinatanhäufung von 0,10 ± 0,01 auf 1,46 ± 0,08 µmol/g FG im Hautmuskel-

Tab. 3 : Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Angaben in µmol/g FG ($\bar{x}$±SD, n=3, T=15° C).

	SUCCINAT		PROPIONAT		ACETAT	
Zeit (h)	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
0	0,10 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,43 ± 0,02	0,59 ± 0,02	2,30 ± 0,54
2	0,34 ± 0,03	0,40 ± 0,01	0,11 ± 0,08	0,48 ± 0,06	0,49 ± 0,17	1,88 ± 0,39
6	0,40 ± 0,04	0,49 ± 0,03	0,37 ± 0,17	0,41 ± 0,11	0,87 ± 0,25	1,89 ± 0,02
12	0,67 ± 0,10	0,70 ± 0,04	0,56 ± 0,23	0,62 ± 0,01	0,77 ± 0,20	2,41 ± 0,37
24	1,46 ± 0,08	1,52 ± 0,14	1,10 ± 0,06	0,95 ± 0,25	0,60 ± 0,03	2,67 ± 0,74
36	1,55 ± 0,17	1,49 ± 0,32	1,62 ± 0,54	0,77 ± 0,16	0,66 ± 0,14	1,72 ± 0,07
48	1,30 ± 0,22	1,53 ± 0,25	1,37 ± 0,46	1,16 ± 0,33	1,03 ± 0,22	2,87 ± 1,02

schlauch bzw. von 0,17 ± 0,03 auf 1,52 ± 0,14 µmol/g FG in den Retraktoren während der ersten 24 h Anaerobiose unterschied sich von der Phase eines konstant hohen Succinatspiegels (bei 1,5 µmol/g FG) von 24 h bis 48 h. Im Hautmuskelschlauch zeigte sich in der Zeit von 36 h bis 48 h Anaerobiose tendentiell eine leichte, nicht signifikante Abnahme der Succinatkonzentration von 1,55 ± 0,17 auf 1,3 ± 0,22 µmol/g FG.

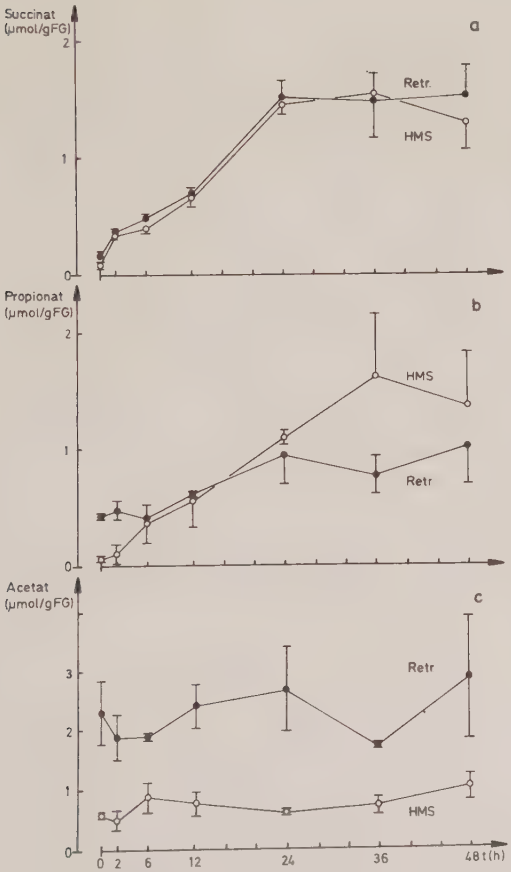


Abb. 8:
Konzentrationsänderungen von Succinat (a), Propionat (b) und Acetat (c) im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) während 48 h Anaerobiose im freien Wasser ($\bar{x}$ ± SD, n = 3, T = 15° C).

Tab. 4: Konzentrationen von Malat, Aspartat, L- und D-Alanin sowie L+D-Alanin im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Angaben in µmol/g FG ($\bar{x}$±SD, n=3, T=15° C).

	MALAT		ASPARTAT		L-ALANIN		D-ALANIN		L+D-ALANIN	
Zeit (h)	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
0	0,082 ± 0,030	n.b.	1,74 ± 0,27	1,87 ± 0,28	3,08 ± 1,61	3,06 ± 1,14	3,79 ± 1,23	3,37 ± 0,57	6,93 ± 3,29	6,47 ± 1,38
2	0,317 ± 0,004	n.b.	1,41 ± 0,03	1,55 ± 0,39	3,38 ± 1,02	2,97 ± 1,06	4,27 ± 0,75	3,05 ± 0,82	7,65 ± 1,25	6,12 ± 1,51
6	0,214 ± 0,015	n.b.	0,71 ± 0,23	0,86 ± 0,13	3,57 ± 1,65	3,34 ± 1,43	3,96 ± 1,79	3,06 ± 0,85	7,53 ± 2,62	6,40 ± 1,93
12	0,296 ± 0,058	n.b.	0,70 ± 0,16	0,73 ± 0,14	4,17 ± 1,77	4,02 ± 1,08	3,50 ± 1,05	3,70 ± 1,01	7,62 ± 2,0	7,82 ± 1,59
24	0,229 ± 0,004	n.b.	0,64 ± 0,02	0,51 ± 0,12	4,14 ± 1,91	4,09 ± 1,53	3,81 ± 2,18	3,23 ± 0,87	7,95 ± 2,90	7,26 ± 1,97
36	0,201 ± 0,023	n.b.	0,81 ± 0,16	0,65 ± 0,06	3,91 ± 1,46	4,94 ± 1,11	6,70 ± 2,96	4,77 ± 1,71	10,60 ± 1,06	9,67 ± 2,0
48	0,108 ± 0,034	n.b.	0,45 ± 0,21	0,51 ± 0,12	4,47 ± 0,70	3,98 ± 0,93	3,18 ± 2,22	2,75 ± 1,36	7,68 ± 2,07	6,69 ± 1,66

n.b.: nicht bestimmt

Mit dem Beginn der Succinatanhäufung setzte zumindest im Hautmuskelschlauch auch die Propionatbildung ein (b). Der Konzentrationsanstieg ging von einem Wert von 0,06 ± 0,02 µmol/g FG aus und erreichte nach kontinuierlichem Anstieg während 36 h Anaerobiose mit 1,62 ± 0,54 µmol/g FG ein Maximum. Die Propionatbildung in den Retraktoren ging von einer höheren Konzentration von 0,43 ± 0,02 µmol/g FG aus. Ein deutlicher Anstieg setzte hier erst nach 6 h ein. Mit 1,16 ± 0,33 µmol/g FG wurde nach 48 h Anaerobiose der höchste Wert erreicht.

Acetat (c) zeigte in beiden Geweben keine so starken Konzentrationsänderungen wie Succinat oder Propionat. Während der ersten 6 h Anaerobiose stieg der Acetatgehalt im Hautmuskelschlauch nach einer vorübergehenden, leichten Abnahme von 0,59 ± 0,02 auf 0,49 ± 0,17 µmol/g FG auf 0,87 ± 0,25 µmol/g FG an. In den nächsten 18 h fiel die Acetatkonzentration wieder leicht bis auf 0,60 ± 0,03 µmol/g FG ab und stieg anschließend bis auf 1,03 ± 0,22 µmol/g FG nach 48 h und damit doch auf einen signifikant von der Ausgangskonzentration verschiedenen Gehalt an. In den Retraktoren fiel der Acetatgehalt in den ersten 6 h ebenfalls vorübergehend von 2,30 ± 0,54 auf 1,88 ± 0,02 µmol/g FG ab und stieg dann bis auf 2,67 ± 0,74 µmol/g FG nach 24 h an. Nach vorübergehender Konzentrationsabnahme bis auf 1,72 ± 0,07 µmol/g FG nach 36 h wurde nach 48 h mit 2,87 ± 1,02 µmol/g FG kein signifikant von der Ausgangskonzentration verschiedener Gehalt erreicht. Auffällig ist hier wie beim Propionat, daß die Ausgangskonzentration in den Retraktoren höher war als im Hautmuskelschlauch.

Abb. 9 zeigt die Konzentrationsveränderungen von Malat und Aspartat sowie D- + L-Alanin in Hautmuskelschlauch und Retraktoren (s.a. Tab. 4).

Die Malatkonzentration (a) im Hautmuskelschlauch stieg in den ersten 2 h der Anaerobiose unvermittelt von 0,082 ± 0,030 auf 0,317 ± 0,004 µmol/g FG an. Nach 6 h zeigte sich eine vorübergehende Konzentrationsabnahme auf 0,214 ± 0,015 µmol/g FG, und nach 12 h lag ein Malatgehalt von 0,296 ±

0,058 µmol/g FG vor. Anschließend fiel die Malatkonzentration kontinuierlich ab, bis nach 48 h Anaerobiose ein Wert von 0,108 ± 0,034 µmol/g FG erreicht war. Die Konzentrationsveränderungen in den Retraktoren wurden aufgrund geringer Extraktvolumina nicht untersucht.

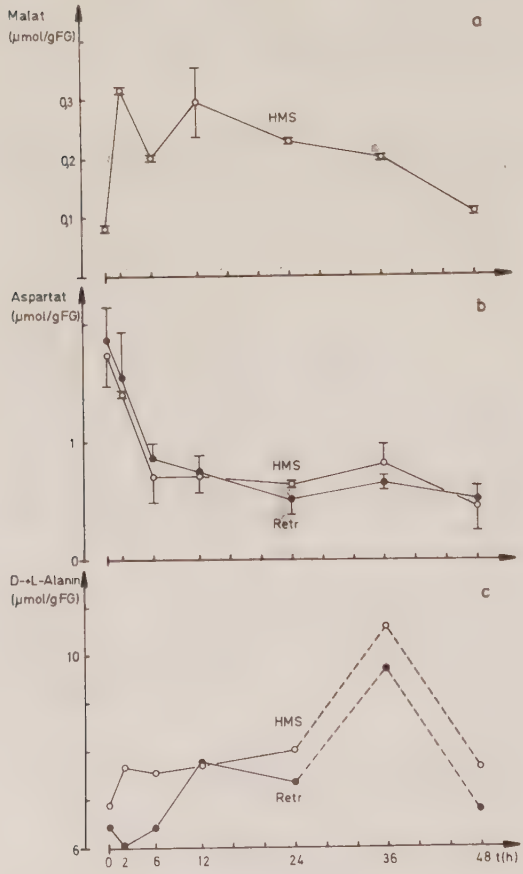


Abb. 9:
Änderungen der Konzentrationen von Malat (a) und Aspartat (b) sowie der Summe der Konzentrationen von D- und L-Alanin (c) im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) während 48 h Anaerobiose im freien Wasser ($\bar{x}\pm SD$, n=3, T=15° C). Für die Summe von D- und L-Alanin sind nur die Mittelwerte angegeben (s. Tab. 4).

Der Aspartatgehalt (b) zeigte in Hautmuskelschlauch und Retraktoren ein etwa gleichläufiges Verhalten. Er fiel z.B. im Hautmuskelschlauch während 6 h Anaerobiose um ca. 1 µmol von

1,74 ± 0,27 auf 0,71 ± 0,23 µmol/g FG ab, um dann bis 48 h mit Werten von 0,70 ± 0,16 µmol/g FG nach 12 h, 0,64 ± 0,02 µmol/g FG nach 24 h, 0,81 ± 0,16 µmol/g FG nach 36 h und 0,45 ± 0,21 µmol/g FG nach 48 h relativ konstant zu bleiben.

Die Summe der Konzentrationen von D- und L-Alanin (c) zeigte in beiden Geweben aufgrund der hohen Individualschwankungen (s. Tab. 4) kein eindeutiges Verhalten. Mit aller Vorsicht könnte unter Vernachlässigung der extrem abweichenden Werte nach 36 h auf eine Konzentrationszunahme um ca. 1 µmol/g FG in den ersten 12 h der Anaerobiose geschlossen werden.

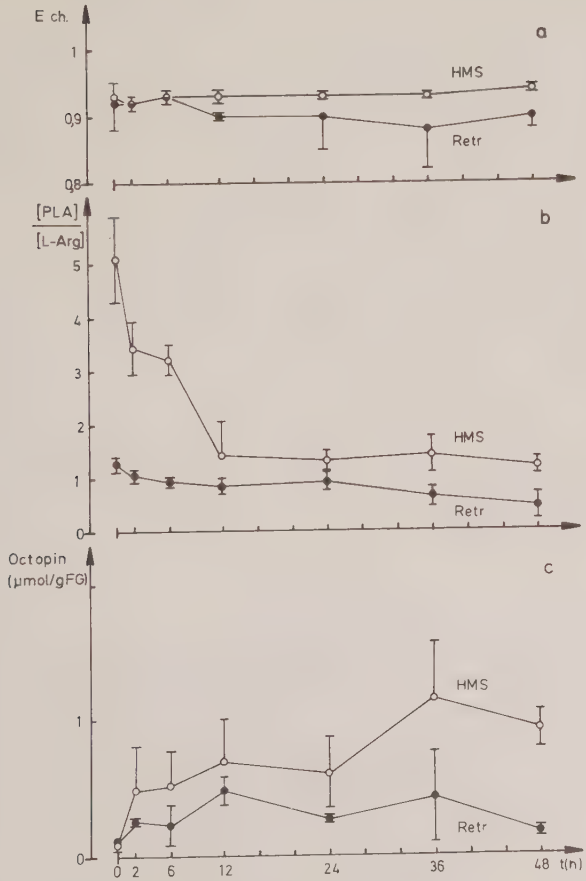


Abb. 10: Veränderungen des Energieinhaltes (E.ch.), des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (b) und der Octopinkonzentration (c) im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) während 48 h Anaerobiose im freien Wasser ($\bar{X}$±SD, n=3, T=15° C)

Tab. 5: Adenylate und Energieinhalt (Energy charge = E. ch.) im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Konzentrationen in µmol/g FG ($\bar{x}$±SD, n=3, T=15° C)

	ATP		ADP		AMP		Summe der Adenylate		E. ch.	
Zeit (h)	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
0	3,11 ± 0,86	2,64 ± 0,26	0,41 ± 0,08	0,35 ± 0,20	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,03	3,57 ± 0,93	3,06 ± 0,13	0,93 ± 0,02	0,92 ± 0,04
2	3,26 ± 0,19	2,83 ± 0,17	0,42 ± 0,13	0,37 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01	3,74 ± 0,08	3,27 ± 0,21	0,92 ± 0,01	0,92 ± 0,01
6	3,14 ± 0,18	3,25 ± 0,52	0,33 ± 0,06	0,41 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	3,53 ± 0,24	3,72 ± 0,52	0,93 ± 0,01	0,93 ± 0,01
12	2,90 ± 0,18	2,87 ± 0,40	0,36 ± 0,07	0,56 ± 0,06	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01	3,33 ± 0,28	3,50 ± 0,47	0,93 ± 0,01	0,90 ± 0
24	3,04 ± 0,16	3,07 ± 0,51	0,45 ± 0,05	0,49 ± 0,08	0,03 ± 0,03	0,14 ± 0,12	3,51 ± 0,14	3,69 ± 0,31	0,93 ± 0	0,90 ± 0,04
36	2,91 ± 0,12	3,04 ± 0,39	0,42 ± 0,02	0,48 ± 0	0,06 ± 0	0,20 ± 0,18	3,38 ± 0,09	3,71 ± 0,21	0,93 ± 0	0,88 ± 0,04
48	3,58 ± 0,68	3,01 ± 0,20	0,48 ± 0,08	0,52 ± 0,04	0,04 ± 0,04	0,11 ± 0,12	4,10 ± 0,81	3,64 ± 0,12	0,94 ± 0	0,90 ± 0,02

Abb. 10 zeigt die Veränderungen im Energiehaushalt sowie Veränderungen der Octopinkonzentration in Hautmuskelschlauch und Retraktoren. Aufgetragen sind für den Energiehaushalt der Energieinhalt (Energy charge) (a) und der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (b).

Der Energieinhalt (a) zeigte während der Anaerobiose im Hautmuskelschlauch fast überhaupt keine, in den Retraktoren nur geringfügige, nicht signifikante Änderungen. Im Hautmuskelschlauch lagen sämtliche Werte zwischen 0,92 und 0,94, und in den Retraktoren war ausgehend von 0,92 ± 0,04 nach 36 h Anaerobiose mit 0,88 ± 0,04 der tiefste Wert erreicht. Im Gesamtadenylatgehalt konnte in beiden Muskelgeweben unter diesen Bedingungen keine signifikante Änderung festgestellt werden (s. Tab. 5). Das Adenylatsystem war also von der experimentellen Anaerobiose nicht wesentlich betroffen.

Phospho-L-Arginin zeigte dagegen in beiden Geweben eine mit Beginn der Anaerobiose deutlich einsetzende Konzentrationsabnahme, die aber selbst unter Berücksichtigung der Octopinbildung zunächst nicht mit einem ebenso deutlichen Anstieg des L-Arginin-Spiegels korreliert war (s. Tab. 6). Dementsprechend nahm der Gesamtgehalt an Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin z.B. im Hautmuskelschlauch in den ersten beiden Stunden der Anaerobiose von 41,49 ± 8,37 auf 35,75 ± 0,16 µmol/g FG ab. Während 48 h Anaerobiose konnte jedoch keine Abnahme des Gesamtgehaltes an Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin festgestellt werden. Wahrscheinlich ist die unzureichende Zunahme der L-Argininkonzentration in den ersten Stunden der Anaerobiose ein Ausdruck von Individualschwankungen.

Wählt man das Verhältnis zwischen den Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin als Indikator für den Füllungsgrad des Phosphatspeichers, so zeigte sich in den ersten 12 h ein rascher Abfall des Quotienten von 5,09 ± 0,80 auf 1,41 ± 0,66 im Hautmuskelschlauch (s. Teilabb. b). In den folgenden Stunden der Anaerobiose blieb der Quotient relativ konstant und erreichte nach 48 h einen Wert von 1,20 ± 0,15.

Tab. 6: Konzentrationen von Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Angaben in µmol/g FG ($\bar{x}$±SD, n=3, T=15° C)

Zeit (h)	PHOSPHO-L-ARG. HMS	PHOSPHO-L-ARG. Retr.	L-ARG. HMS	L-ARG. Retr.	[PLA]/[L-ARG.] HMS	[PLA]/[L-ARG.] Retr.	OCTOPIN HMS	OCTOPIN Retr.	[PLA]+[L-ARG.]+[OCT.] HMS	[PLA]+[L-ARG.]+[OCT.] Retr.
0	34,49 ± 6,87	12,30 ± 1,52	6,42 ± 1,79	9,80 ± 0,34	5,09 ± 0,80	1,25 ± 0,14	0,09 ± 0,04	0,10 ± 0,03	41,49 ± 8,37	22,24 ± 1,75
2	27,24 ± 0,71	10,27 ± 2,03	8,03 ± 0,94	9,71 ± 0,86	3,42 ± 0,49	1,05 ± 0,11	0,48 ± 0,33	0,25 ± 0,02	35,75 ± 0,16	20,22 ± 2,06
6	27,16 ± 1,59	10,03 ± 1,17	8,56 ± 0,05	10,80 ± 0,51	3,17 ± 0,29	0,93 ± 0,07	0,51 ± 0,26	0,23 ± 0,14	38,65 ± 0,95	21,06 ± 1,33
12	20,39 ± 5,92	9,10 ± 2,21	16,0 ± 3,21	10,98 ± 0,75	1,41 ± 0,66	0,83 ± 0,15	0,68 ± 0,31	0,47 ± 0,10	37,06 ± 2,40	20,55 ± 2,0
24	21,36 ± 1,51	11,08 ± 1,83	16,70 ± 1,52	12,05 ± 0,22	1,31 ± 0,19	0,92 ± 0,17	0,60 ± 0,26	0,26 ± 0,02	38,66 ± 0,27	23,33 ± 1,12
36	22,84 ± 2,30	8,80 ± 2,15	16,30 ± 2,10	14,12 ± 0,85	1,42 ± 0,33	0,63 ± 0,19	1,14 ± 0,42	0,42 ± 0,33	40,27 ± 0,28	23,34 ± 0,53
48	24,05 ± 3,64	5,45 ± 2,61	20,06 ± 0,03	13,20 ± 1,04	1,20 ± 0,15	0,43 ± 0,23	0,92 ± 0,14	0,16 ± 0,04	45,02 ± 2,88	18,80 ± 1,07

Die Konzentration des Phospho-L-Arginins fiel während 12 h Anaerobiose um 14,10 von 34,49 ± 6,87 auf 20,39 ± 5,92 µmol/g FG, während 48 h jedoch nur um netto 10,44 auf 24,05 ± 3,64 µmol/g FG. Der niedrigste Wert wurde mit 20,39 ± 5,92 µmol/g FG bereits nach 12 h Anaerobiose erreicht. Anschließend fand den Mittelwerten zufolge ein leichter, nicht signifikanter Konzentrationsanstieg bis auf 24,05 ± 3,64 µmol/g FG nach 48 h statt.

In den Retraktoren waren die Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin unter normoxen Bedingungen größenordnungsmäßig gleich. Der Ausgangswert lag für Phospho-L-Arginin bei 12,30 ± 1,52 µmol/g FG und für L-Arginin bei 9,8 ± 0,34 µmol/g FG. Der Quotient der Konzentrationen fiel während 48 h Anaerobiose von 1,25 ± 0,14 auf 0,43 ± 0,23. Die Konzentrationsabnahme des Phospho-L-Arginin betrug in dieser Zeit 6,85 µmol/g FG. Mit 5,45 ± 2,61 µmol/g FG wurde in den Retraktoren im Gegensatz zum Hautmuskelschlauch nach 48 h Anaerobiose der niedrigste Wert erreicht.

Die Octopinkonzentration (c) stieg im Hautmuskelschlauch während der ersten 2 h Anaerobiose von 0,09 ± 0,04 auf 0,48 ± 0,33 µmol/g FG. Nach 36 h war mit 1,14 ± 0,42 µmol/g FG der höchste Gehalt an Octopin erreicht. In den Retraktoren kam es dagegen nur zu einer Anhäufung auf maximal 0,47 ± 0,10 µmol/g FG nach 12 h Anaerobiose. Der Ausgangswert lag hier bei 0,10 ± 0,03 µmol/g FG. D-Laktat konnte in beiden Geweben nicht nachgewiesen werden. L-Laktat wird von *Sipunculus nudus* ebenfalls nicht gebildet (Grieshaber, mdl. Mittlg.).

b) Konzentrationsänderungen in den Coelomzellen

Tab. 7 zeigt die Konzentrationsänderungen von Succinat, Propionat, Acetat, Aspartat und Malat sowie Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin in den Coelomzellen während 24 h Anaerobiose. Den Ergebnissen zufolge traten ähnliche Metabolitbewegungen auf wie in der Muskulatur:

Die Malatkonzentration stieg innerhalb von 12 h von 0,009 ± 0,003 auf 0,128 ± 0,029 µmol/g FG, um dann bis auf 0,105 ±

Tab. 7: Metabolitkonzentrationen in den Coelomzellen nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Angaben in µmol/g FG ($\bar{x}$±SD, n=4, T=15° C)

Zeit (h)	SUCCINAT	PROPIONAT	ACETAT	MALAT	ASPARTAT	PHOSPHO-L-ARGININ	L-ARGININ	$\frac{[PLA]}{[L-ARG]}$	OCTOPIN
0	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,003	2,21 ± 0,004	0,009 ± 0,003	2,12 ± 1,28	1,34 ± 0,28	1,21 ± 0,04	1,11 ± 0,26	0,002 ± 0,002
12	0,61 ± 0,08	0,57 ± 0,14	2,54 ± 0,40	0,128 ± 0,029	4,30 ± 3,20	0,15 ± 0,07	1,49 ± 0,56	0,11 ± 0,05	0,039 ± 0,009
24	0,61 ± 0,03	0,48 ± 0,15	2,28 ± 1,34	0,105 ± 0,029	1,93 ± 1,38	0,09 ± 0,02	1,80 ± 0,34	0,05 ± 0,01	0,036 ± 0,009

0,029 µmol/g FG nach 24 h Anaerobiose abzufallen. Der Succinatgehalt nahm während 12 h Anaerobiose von 0,09 ± 0,01 auf 0,61 ± 0,08 µmol/g FG zu und blieb dann mit 0,61 ± 0,03 µmol/g FG nach 24 h konstant. Der Propionatgehalt stieg während 12 h von 0,07 ± 0,003 auf 0,57 ± 0,14 µmol/g FG. Nach 24 h Anaerobiose wurden 0,48 ± 0,15 µmol/g FG gemessen. Der Acetatgehalt nahm ausgehend von einer hohen Ausgangskonzentration von 2,21 ± 0,004 µmol/g FG nicht eindeutig zu. Aspartat zeigte aufgrund starker Konzentrationsschwankungen ebenfalls keine eindeutigen Änderungen.

Das Phospho-L-Arginin wurde schon während 12 h Anaerobiose fast vollständig abgebaut. Insgesamt nahm der Gehalt an Phospho-L-Arginin in 24 h von 1,34 ± 0,28 auf 0,09 ± 0,02 µmol/g FG ab. Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin fiel in dieser Zeit von 1,11 ± 0,26 auf 0,05 ± 0,01. Die Octopinkonzentration stieg nur geringfügig von 0,002 ± 0,002 auf 0,036 ± 0,009 µmol/g FG an.

c) Konzentrationsänderungen im Coelomplasma und im Inkubationswasser

Abb. 11 zeigt, in welchem Ausmaß Succinat, Propionat und Acetat während 24 h Anaerobiose aus dem Gewebe und den Coelomzellen an das Coelomplasma abgegeben wurden. Der Succinatgehalt stieg während 12 h Anaerobiose kontinuierlich von 0,06 ± 0,02 auf 0,19 ± 0,07 µmol/ml Plasma. Nach 24 h war ein Wert von 0,22 ± 0,04 µmol/ml Plasma erreicht. Der Propionatgehalt zeigte in den ersten 6 h der Anaerobiose einen leichten Anstieg von 0,03 ± 0,02 auf 0,10 ± 0,05 µmol/ml Plasma. Eine deutlichere Konzentrationszunahme von 0,10 ± 0,05 auf 0,73 ± 0,22 µmol/ml Plasma war in der Zeit von 6 - 12 h festzustellen. Nach 24 h wurden 0,92 ± 0,12 µmol/ml Plasma erreicht. Die Acetatkonzentration nahm erst nach 6 - 12 h Anaerobiose über den Ausgangswert von 0,24 ± 0,11 µmol/ml Plasma hinaus zu. Zunächst fiel sie wie schon im Gewebe

leicht bis auf 0,17 ± 0,04 µmol/ml Plasma ab, um dann anzusteigen. In der Zeit von 6 - 12 h stieg sie schnell von 0,20 ± 0,09 bis auf 0,66 ± 0,37 µmol/ml Plasma, und von 12 - 24 h langsamer bis auf 0,71 ± 0,19 µmol/ml Plasma. Nach 24 h war ein Wert von 0,77 ± 0,17 µmol/ml Plasma erreicht. Malat und Octopin konnten im Coelomplasma nur in Spuren nachgewiesen werden.

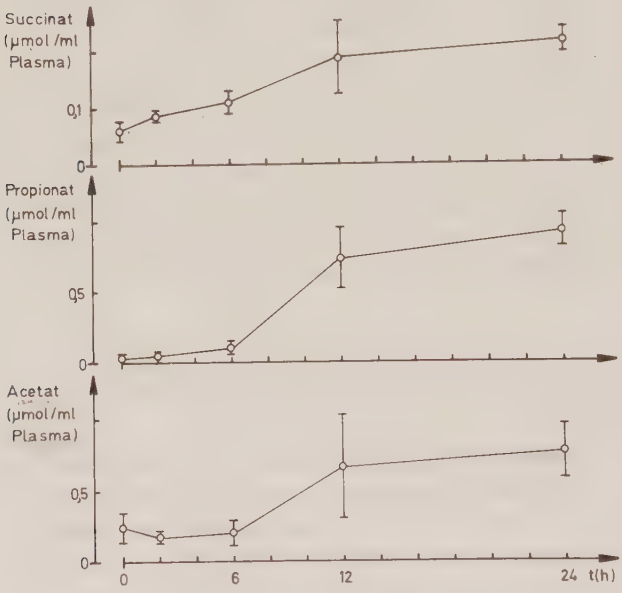


Abb. 11: Konzentrationsänderungen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma während 24 h Anaerobiose im freien Wasser ($\bar{x}$ ± SD = 4, T = 15 °C).

Zwischen 6 und 12 h Anaerobiose setzte eine Ausscheidung der flüchtigen Fettsäuren in das Inkubationswasser ein (s. Tab. 8). Nach 24 h Normoxie lagen Acetat mit 0,17 µmol/g Körpergewicht und Propionat mit 0,04 µmol/g Körpergewicht in geringen Mengen im Inkubationswasser vor. Während der Anaerobiose stieg die ausgeschiedene Menge zwischen 6 und 12 h von 0,11 auf 0,64 µmol/g Körpergewicht beim Acetat und von 0,02 auf 0,14 µmol/g Körpergewicht beim Propionat. Während die Acetatkonzentration im Inkubationswasser nach 12 h nicht weiter zunahm, erreichte

die ausgeschiedene Propionatmenge nach 24 h einen Wert von insgesamt 0,40 µmol/g Körpergewicht.

Tab. 8: Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma (I) und Inkubationswasser (II) nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser, Konzentrationen ($\bar{x}$±SD) in µmol/ml Plasma (I, n=4) bzw. µmol/g Körpergewicht (II, n=4), T=15° C

	I. Coelomplasma			II. Inkubationswasser	
Zeit (h)	Succinat	Propionat	Acetat	Propionat	Acetat
0	0,06 ±0,02	0,03 ±0,02	0,24 ±0,11	0,04*	0,17*
2	0,09 ±0,01	0,05 ±0,03	0,17 ±0,04	0,02	0,05
6	0,11 ±0,02	0,10 ±0,05	0,20 ±0,09	0,02	0,11
12	0,19 ±0,07	0,73 ±0,22	0,66 ±0,37	0,14	0,64
24	0,22 ±0,04	0,92 ±0,12	0,77 ±0,19	0,40	0,49

* 24 h Aerobiose

d) Stoffwechselbilanz bei Anaerobiose im freien Wasser

Um Auskunft über die Produktionsrate der einzelnen Metabolite im Hinblick auf die Redoxbilanz und ATP-Synthese zu erhalten, wurden in Tab. 9 die Konzentrationsänderungen der wichtigen Metabolite des anaeroben Stoffwechsels für die Zeiträume von 0-2, 2-6, 6-12, 12-24 h Anaerobiose zusammengestellt. Die Konzentrationsänderungen wurden aus den Mittelwerten der Meßdaten in µmol/g FG berechnet.

Bei der Zusammenstellung wurden die Konzentrationsänderungen im Hautmuskelschlauch als repräsentativ für das gesamte Gewebe behandelt, also auf 48 % des Gesamtgewichtes bezogen. Die Vorgänge in Retraktoren und Coelomzellen wurden aufgrund der prinzipiellen Übereinstimmung des Stoffwechsels und des geringen Anteils am Körpergewicht (s. 2.2.1.) vernachlässigt. Die in Coelomplasma und Inkubationswasser gefundenen Metabolitmengen

Tab. 9: Umsatzraten wichtiger Metabolite des anaeroben Stoffwechsels während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (T=15° C). Die Berechnung erfolgte aus den Mittelwerten der Metabolitkonzentrationen im Hautmuskelschlauch (HMS), im Coelomplasma und im Inkubationswasser. Angaben in µmol/g Hautmuskelschlauch (weitere Erläuterungen s. Text).

	0 – 2 h		2 – 6 h		6 – 12 h		12 – 24 h		0 – 24 h
Metabolit	Δ c	Δ c/h	Δ c	Δ c/h	Δ c	Δ c/h	Δ c	Δ c/h	Δ c
Malat	+ 0,235		- 0,103		+ 0,082		- 0,067		+ 0,147
Aspartat	- 0,33	- 0,17	- 0,70	- 0,18	- 0,01	- 0,002	- 0,06	- 0,005	- 1,10
Alanin	+ 0,33	+ 0,17	+ 0,70	+ 0,18	+ 0,01	+ 0,002	+ 0,06	+ 0,005	+ 1,10
Succinat	+ 0,26	+ 0,13	+ 0,09	+ 0,02	+ 0,35	+ 0,06	+ 0,82	+ 0,07	+ 1,52
Propionat	+ 0,10	+ 0,05	+ 0,33	+ 0,08	+ 1,15	+ 0,19	+ 0,75	+ 0,06	+ 2,33
Acetat	- 0,04	- 0,02	+ 0,56	+ 0,14	+ 1,63	+ 0,27	- 0,40	- 0,03	+ 1,75
Octopin	+ 0,39	+ 0,20	+ 0,03	+ 0,008	+ 0,17	+ 0,03	- 0,08	- 0,007	+ 0,51
Phospho-L-Arginin	- 7,25	- 3,63	- 0,08	- 0,013	- 6,77	- 1,13	+ 0,97	+ 0,08	-10,44

wurden dementsprechend den Konzentrationsänderungen hinzugerechnet, die im Hautmuskelschlauch gefunden worden waren.

Da über die Konzentrationsänderungen von Alanin aufgrund der hohen Individualschwankungen nur Vermutungen möglich sind, wurde aufgrund der gefundenen Konzentrationen eine der Abnahme des Aspartatgehaltes äquimolare Zunahme der Alaninkonzentration angenommen.

Die Bewegungen der Konzentrationen von Malat, Aspartat, Alanin, Octopin und Phospho-L-Arginin, der Metabolite, die das Gewebe nicht verließen, wurden bereits im einzelnen besprochen. Aspartat zeigte demnach während 6 h Anaerobiose eine Abbaurate von - 0,17 (0-2 h) bzw. - 0,18 (2-6 h) µmol/g x h, verbunden mit einer angenommenen, ebenso großen Syntheserate für Alanin. Die Bildungsrate für Octopin lag mit 0,2 µmol/g x h von 0-2 h Anaerobiose am höchsten. Die weiteren Bildungs- und Umsatzraten lagen unter ± 0,01 µmol/g x h. Die Abbaurate des Phospho-L-Arginins betrug zwischen 0 und 2 h Anaerobiose - 3,63 µmol/g x h. Nachdem zwischen 2 und 6 h mit - 0,013 µmol/g x h nur sehr wenig Pospho-L-Arginin abgebaut wurde, setzte nach 6 h erneut eine Umsetzung ein, die um - 1,13 µmol/g x h erfolgte. Von 12 - 24 h wurde den Ergebnissen zufolge sogar ein Teil des Phospho-L-Arginin mit + 0,08 µmol/g x h resynthetisiert.

Abb. 12 zeigt die Produktion der Metabolite Succinat, Propionat und Acetat während 24 h Anaerobiose, die aus den in Hautmuskelschlauch, Coelomplasma und Inkubationswasser gefundenen Konzentrationen berechnet wurde.

Die Succinatproduktion setzte in den ersten 2 h der Anaerobiose rasch ein und setzte sich dann langsamer fort. Die produzierte Menge betrug 0,26 µmol/g FG von 0-2 h und 0,09 µmol/g FG von 2-6 h, d.h. die Produktionsrate sank von durchschnittlich 0,13 µmol/g x h auf 0,02 µmol/g x h. Von 6 bis 12 h stieg sie wieder auf 0,06 µmol/g x h an und änderte sich bis 24 h mit 0,07 µmol/g x h kaum. Die insgesamt während der 24 h Anaerobiose produzierte Succinatmenge betrug 1,52 µmol/g FG.

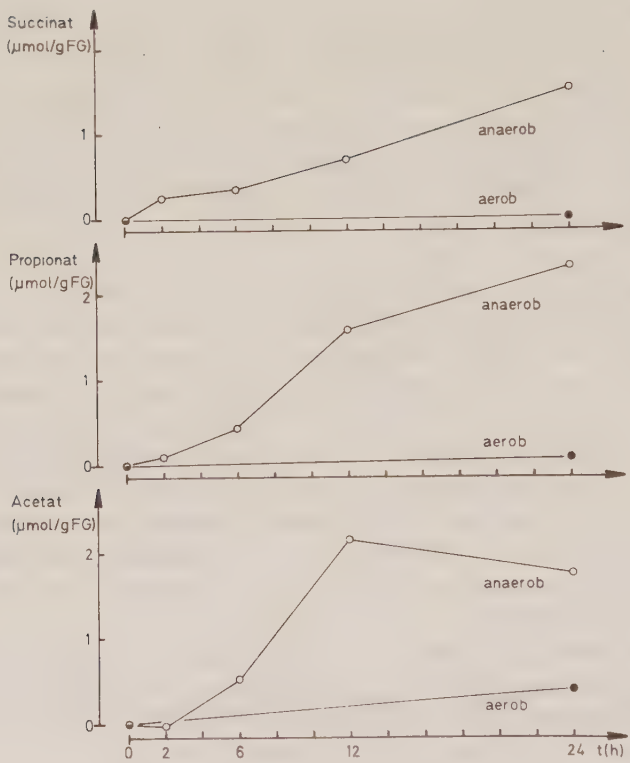


Abb. 12: Nettoproduktion von Succinat, Propionat und Acetat während 24 h Anaerobiose und Aerobiose (T=15° C), weitere Erläuterungen s. Tab.9 und Text.

Die Propionatproduktion setzte ebenfalls mit Beginn der Anaerobiose ein. Die Syntheserate betrug von 0-2 h noch 0,05 µmol/g x h, stieg bis 6 h auf 0,08 µmol/g x h und erreichte von 6-12 h mit durchschnittlich 0,19 µmol/g x h ihren höchsten Wert. Anschließend fiel sie wieder auf 0,06 µmol/g x h ab. Insgesamt wurden während 24 h Anaerobiose 2,33 µmol/g FG produziert. Demgegenüber wurden während 24 h Normoxie 0,05 µmol/g FG in das Inkubationswasser ausgeschieden. Die Konzentration im Gewebe wurde während der Aerobiose als konstant angesehen.

Die Acetatproduktion setzte erst zwischen 2 und 6 h Anaerobiose mit einer durchschnittlichen Syntheserate von 0,14 µmol/g x h ein. Von 0-2 h zeigte sich den Ergebnissen zufolge sogar

eine leichte Metabolisierung um 0,04 µmol/g FG. Wie die Propionatsynthese erreichte die Acetatproduktion zwischen 6 und 12 h Anaerobiose mit 0,27 µmol/g x h ihren höchsten Wert. In der Zeit von 12 bis 24 h setzte eine Metabolisierung des angehäuften Acetates ein, die bis 24 h einen Wert von -0,40 µmol/g FG erreichte. Die maximal produzierte Menge betrug nach 12 h 2,15 µmol/g FG. Demgegenüber wurden während 24 h Normoxie 0,36 µmol/g FG in das Inkubationswasser ausgeschieden.

e) Zusammenfassung

Die Stoffwechselprozesse in den verschiedenen Geweben zeigten eine prinzipielle Übereinstimmung. Zusammenfassend fanden bei experimenteller Anaerobiose in den untersuchten Geweben folgende Bewegungen in den Metabolitkonzentrationen statt:

- Der Succinatgehalt stieg zunächst kontinuierlich an und erreichte nach 24 h eine erhöhte Gleichgewichtskonzentration. Succinat wurde nur in das Coelomplasma ausgeschieden.
- Die Propionatbildung setzte frühzeitig ein. In der Zeit zwischen 6 und 12 h wurde die maximale Syntheserate erreicht. Während im Hautmuskelschlauch innerhalb von 36 h Anaerobiose ein relativ kontinuierlicher Konzentrationsanstieg erfolgte, fand in den Retraktoren erst nach 12 h eine Konzentrationszunahme statt. Von 6 - 24 h war der Konzentrationsanstieg in beiden Muskelgeweben etwa gleichläufig. Nach 6 h Anaerobiose wurde Propionat auch im Coelomplasma und im Inkubationswasser in größeren Mengen gefunden.
- Die Acetatbildung setzte erst nach 2 h Anaerobiose ein. Die maximale Syntheserate lag in der Zeit zwischen 6 und 12 h. Im Gewebe trat zunächst keine eindeutige Konzentrationszunahme auf. Nach 6 h Anaerobiose wurde Acetat jedoch verstärkt in das Coelomplasma und in das Inkubationswasser abgegeben. Die Ausgangskonzentration in den Retraktoren, den Coelomzellen und im Coelomplasma lag höher als im Hautmuskelschlauch. Nach 12 h Anaerobiose fand eine deutliche Metabolisierung von Acetat statt.

- Octopin zeigte zu Beginn der Anaerobiose einen Konzentrationsanstieg in der Muskulatur. In den Retraktoren lag die Octopinkonzentration während der Anaerobiose generell niedriger als im Hautmuskelschlauch.
- Die Malatkonzentration stieg im Hautmuskelschlauch zu Beginn der Anaerobiose an, zeigte nach 6 h einen Konzentrationseinbruch, stieg bis 12 h Anaerobiose wieder an und nahm dann kontinuierlich ab.
- Der Aspartatgehalt nahm in Hautmuskelschlauch und Retraktoren in den ersten 6 h der Anaerobiose kontinuierlich ab, um dann konstant zu bleiben.
- Der Gehalt an D- und L-Alanin wies in den ersten 12 h der Anaerobiose eine Konzentrationszunahme auf, die aufgrund hoher Individualschwankungen nicht eindeutig war, die jedoch quantitativ in der Größenordnung der Aspartatabnahme lag.
- Das Phospho-L-Arginin wurde hauptsächlich in den ersten 12 h der Anaerobiose abgebaut. Die Ausgangskonzentration lag in den Retraktoren sehr viel niedriger als im Hautmuskelschlauch. Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin zeigte in den Retraktoren ebenfalls sehr viel niedrigere Werte. In den Retraktoren fand bis 48 h Anaerobiose ein weiterer Abbau von Phospho-L-Arginin statt, während im Hautmuskelschlauch sogar ein leichter Konzentrationsanstieg auftrat. Die Konzentrationszunahme war jedoch nicht mit einer Erhöhung des Quotienten [PLA]/[Arg] verbunden.
- Die Adenylatkonzentrationen und der Energieinhalt (Energy charge) zeigten während der Anaerobiose keine wesentlichen Änderungen. In den Retraktoren trat eine geringfügige Abnahme des Energieinhaltes auf, während der Energieinhalt im Hautmuskelschlauch nicht betroffen war.

3.1.2. Veränderungen von Metabolitkonzentrationen in Hautmuskelschlauch und Retraktoren während erschöpfender Grabtätigkeit

In diesem Versuch wurden Tiere als Ruhetiere aufgearbeitet, die dem Sand der Hälterungsbecken entnommen worden waren. Sie wiesen im Vergleich mit aerob in Seewasser gehälterten Tieren (s. 3.1.1.) nur geringe Unterschiede auf. Weitere Tiere wurden nach dem Ausgraben zu intensiver Grabtätigkeit veranlaßt (s. 2.5.1.3. a) und anschließend aufgearbeitet. Die bei Ruhetieren und weitgehend erschöpften Tieren ermittelten Metabolitkonzentrationen sind in den Tabellen 10 und 11 zusammengestellt.
Die Tiere zeigten bei Grabtätigkeit einen deutlichen Anstieg des Octopingehaltes im Hautmuskelschlauch von 0,97 ± 0,71 um 8,1 auf 9,07 ± 2,55 µmol/g FG (s. Tab. 10). In den Retraktoren nahm die Octopinkonzentration dagegen nur von 0,11 ± 0,09 um 0,98 auf 1,09 ± 0,39 µmol/g FG zu. D-Laktat konnte in beiden Geweben nicht nachgewiesen werden.

Verglichen mit dem Octopingehalt zeigte die Succinatkonzentration nur geringe Änderungen (s. Tab. 11). Sie stieg im Hautmuskelschlauch von 0,11 ± 0,02 um 0,17 auf 0,29 ± 0,03 µmol/g FG, in den Retraktoren von 0,08 ± 0,03 um 0,22 auf 0,30 ± 0,13 µmol/g FG.

Propionat und Acetat zeigten keine wesentlichen Konzentrationsänderungen.

Der Malatgehalt stieg während der Grabtätigkeit im Hautmuskelschlauch von 0,15 ± 0,03 auf 0,46 ± 0,18 µmol/g FG (s. Tab. 11) und erreichte somit einen etwas höheren Wert als bei anaerob gehälterten Tieren (0,32 ± 0 µmol/g FG nach 2 h, s. Tab. 4, S.66). In den Retraktoren erfolgte eine Konzentrationszunahme von 0,05 ± 0,02 auf 0,19 ± 0,02 µmol/g FG.

Aspartat zeigte in beiden Muskelgeweben eine Konzentrationsabnahme (s. Tab. 11). Im Hautmuskelschlauch fiel der Gehalt von 1,35 ± 0,18 auf 1,18 ± 0,19 µmol/g FG, in den Retraktoren von 1,66 ± 0,26 auf 0,91 ± 0,39 µmol/g FG. Eine parallel erfolgende

Tab. 10 : Metabolitspiegel im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach erschöpfendem Graben I. Phospho-L-Arginin, L-Arginin, Quotient [PLA] / [L-Arg], Octopin, Adenylate und Energieinhalt (E.ch.), Konzentrationen in µmol/g FG ($\bar{x} \pm SD$, n = 5, T = 17 °C).

	PHOSPHO-L-ARG.		L-ARGININ		[PLA] / [L-ARG]		OCTOPIN		Σ[PLA]+[L-ARG.]+[OCT.]	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
Ruhe	30,58 ± 2,28	12,20 ± 1,34	9,14 ± 1,09	9,91 ± 0,39	3,53 ± 0,52	1,23 ± 0,13	0,97 ± 0,71	0,11 ± 0,09	40,69 ± 2,19	22,22 ± 1,42
Arbeit	17,22 ± 6,42	7,18 ± 2,01	15,88 ± 2,71	12,10 ± 2,37	1,12 ± 0,48	0,62 ± 0,25	9,07 ± 2,55	1,09 ± 0,39	42,17 ± 3,89	20,37 ± 2,17

	ATP		ADP		AMP		SUMME DER ADENYLATE		E.CH.	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
Ruhe	2,42 ± 0,51	2,29 ± 0,62	0,41 ± 0,15	0,37 ± 0,18	0,05 ± 0,03	0,08 ± 0,06	3,05 ± 0,46	2,74 ± 0,56	0,91 ± 0,01	0,90 ± 0,05
Arbeit	2,60 ± 0,77	2,24 ± 0,56	0,23 ± 0,04	0,46 ± 0,18	0,04 ± 0,01	0,23 ± 0,28	2,86 ± 0,81	2,93 ± 0,57	0,95 ± 0,02	0,84 ± 0,08

Konzentrationszunahme des L- + D-Alanins ließ sich wie bei Anaerobiose im freien Wasser aufgrund der hohen Individualschwankungen nur bedingt und nur für den Hautmuskelschlauch feststellen. Eine quantitative Zuordnung zur Abnahme der Aspartatkonzentration ist hier überhaupt nicht möglich.

Die Beanspruchung des Energiehaushaltes durch die Grabtätigkeit zeigte sich wie bei Anaerobiose im freien Wasser hauptsächlich im Phosphagengehalt (s. Tab. 10). Die Konzentration des Phospho-L-Arginins fiel im Hautmuskelschlauch von 30,58 ± 2,28 um 13, 36 auf 17,22 ± 6,42 µmol/g FG, in den Retraktoren von 12,20± 1,34 um 5,02 auf 7,18 ± 2,01 µmol/g FG. Der schon unter 3.1.1. festgestellte Unterschied im Gehalt beider Gewebe an Phosphagen bestätigte sich damit. Der Gehalt an L-Arginin stieg im Hautmuskelschlauch von 9,14 ± 1,09 µmol/g FG um 6,74 auf 15,88±2,71 µmol/g FG, in den Retraktoren von 9,91 ± 0,39 um 2,19 auf 12,10 ± 2,37 µmol/g FG. Die Konzentrationszunahme des L-Arginins entsprach damit zunächst nicht quantitativ der Abnahme an Phospho-L-Arginin. Unter Einbeziehung der Octopinbildung ergab sich im Hautmuskelschlauch für die freigesetzte Menge L-Arginin ein Wert von 14,84 µmol/g FG, in den Retraktoren ein Wert von 3,17 µmol/g FG. Zumindest für den Hautmuskelschlauch konnte damit größenordnungsmäßig eine dem Abbau des Phospho-L-Arginin entsprechende Freisetzung von L-Arginin gefunden werden. Die Summe der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin, L-Arginin und Octopin blieb in beiden Geweben relativ konstant.

Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin fiel im Hautmuskelschlauch während der Grabtätigkeit von 3,53 ± 0,52 auf 1,12 ± 0,48, in den Retraktoren von 1,23 ± 0,13 auf 0,62 ± 0,25.

Die Adenylate zeigten während der Grabtätigkeit keine wesentlichen Konzentrationsänderungen (s. Tab. 10). Dementsprechend traten auch nur geringe Änderungen im Energieinhalt auf. Die Retraktoren waren mit einer geringen, nicht signifikanten Abnahme des Energieinhaltes von 0,90 ± 0,05 auf 0,84 ± 0,08 stärker betroffen als der Hautmuskelschlauch, in dem den Er-

Tab. 11 : Metabolitspiegel im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach erschöpfendem Graben II. Succinat, Propionat, Acetat, Malat, Aspartat, L-Alanin, D-Alanin; Angaben in µmol/g FG ($\bar{x}$ ± SD, n = 5, T = 17 °C).

	SUCCINAT		PROPIONAT		ACETAT		MALAT	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
Ruhe	0,11 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,16 ± 0,07	0,48 ± 0,10	0,66 ± 0,17	2,97 ± 0,83	0,15 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Arbeit	0,29 ± 0,03	0,30 ± 0,13	0,17 ± 0,06	0,42 ± 0,22	0,59 ± 0,18	2,18 ± 0,51	0,46 ± 0,18	0,19 ± 0,02

	ASPARTAT		L-ALANIN		D-ALANIN		L- + D-ALANIN	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
Ruhe	1,35 ± 0,18	1,66 ± 0,26	3,08 ± 1,61	2,48 ± 0,55	3,63 ± 2,09	2,63 ± 0,68	6,71 ± 3,64	5,31 ± 1,08
Arbeit	1,18 ± 0,19	0,91 ± 0,39	3,12 ± 1,16	3,09 ± 1,32	4,73 ± 1,16	2,11 ± 0,39	7,49 ± 2,09	5,11 ± 1,56

- 88 -

gebnissen zufolge sogar eine Zunahme von 0,91 ± 0,01 auf 0,95 ± 0,02 auftrat.

Zusammenfassend fanden bei intensiver Grabtätigkeit im Hautmuskelschlauch und in den Retraktoren folgende Bewegungen in den Metabolitkonzentrationen statt:

- Der Octopingehalt stieg im Hautmuskelschlauch stark um 8,1 µmol/g FG, in den Retraktoren dagegen nur um 0,96 µmol/g FG an.
- Succinat zeigte in beiden Geweben eine geringfügige Konzentrationszunahme, Propionat und Acetat wurden nicht gebildet.
- Der Malatgehalt stieg in beiden Geweben an. Die Aspartatkonzentration nahm in beiden Muskelgeweben ab. Der Gesamt-Alaningehalt zeigte keine eindeutige Konzentrationsänderung. Eine quantitative Zuordnung zur Abnahme des Aspartatgehaltes war nicht möglich.
- Der Gehalt an Phospho-L-Arginin nahm im Hautmuskelschlauch um 13,36 µmol/g FG, in den Retraktoren um 5,02 µmol/g FG ab. Die Retraktoren wiesen im Vergleich mit dem Hautmuskelschlauch einen geringeren Gehalt an Phospho-L-Arginin und einen niedrigeren Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin auf.
- Der Energieinhalt nahm nur in den Retraktoren geringfügig ab.

3.1.3. Aktivitäten von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in Hautmuskelschlauch und Retraktoren

Die Muskulatur von *Sipunculus nudus* wurde für die Bestimmung wichtiger Enzymaktivitäten in Ring-, Längs- und Retraktormuskeln getrennt. Das als Ringmuskulatur bezeichnete Gewebe enthielt dabei neben der Muskulatur noch Cutis, Cutiskanäle mit Coelomflüssigkeit und die Cuticula. Die Verteilung der Schrägmuskulatur konnte bei der Auftrennung des Gewebes nicht verfolgt werden. Sie wurde aufgrund des geringen Anteils die-

ser Muskulatur am Hautmuskelschlauch (Metalnikoff, 1900; de Eguileor und Valvassori, 1977) vernachlässigt.

Vergleicht man die Maximalaktivitäten der Enzyme und damit ihre wahrscheinliche Konzentration in den verschiedenen Muskelgeweben, so erhält man nach Pette (1968) Auskunft über die relative Kapazität eines Gewebes für eine Stoffwechselrichtung. Auf diese Weise ist eine Aussage über eine unterschiedliche metabolische Differenzierung des Muskelgewebes möglich.

Die ermittelten Enzymaktivitäten sind in Tab. 12 zusammengestellt. Da in den bereits geschilderten Experimenten Metabolitkonzentrationen nur für den Gesamthautmuskelschlauch bestimmt wurden, sind in der Tabelle auch die Enzymaktivitäten für den gesamten Hautmuskelschlauch angegeben. Sie wurden unter Berücksichtigung der Gewichtsverhältnisse (s. S. 20) aus den Mittelwerten der für Ring- und Längsmuskulatur ermittelten Aktivitäten berechnet.

Bei der Erstellung des Enzymspektrums traten folgende quantitative Unterschiede auf:

Die Längsmuskulatur zeigte den höchsten Gehalt an Phosphorylase (a + b). Er war mit 1,16 ± 0,21 U/g FG doppelt so groß wie in der Ringmuskulatur (0,52 ± 0,04 U/g FG) und ca. dreimal so groß wie in den Retraktoren (0,37 ± 0,14 U/g FG). Die angegebenen Aktivitäten wurden nach Zugabe von 0,5 mmol/l 5'AMP erhalten. Dabei wurde die Phosphorylase in der Längsmuskulatur ausgehend von 0,19 ± 0,06 U um den Faktor 6,11 aktiviert. In der Ringmuskulatur erfolgte die Aktivierung ausgehend von 0,08 ± 0,03 U um den Faktor 6,50. Nur in den Retraktoren war eine ähnliche Aktivierung nicht möglich. Sie erfolgte ausgehend von 0,23 ± 0,20 U/g FG um den Faktor 1,61.

Entsprechend dieser höheren glykogenolytischen Potenz war auch der Gehalt an Phosphofructokinase in der Längsmuskulatur am höchsten (7,76 ± 1,63 U/g FG), gefolgt von den Retraktoren mit 6,09 ± 1,25 U/g FG und der Ringmuskulatur mit 4,14 ±

Tab. 12 : Aktivitäten wichtiger Enzyme des Energiestoffwechsels in verschiedenen Muskelgeweben von Sipunculus nudus. Das als Ringmuskulatur bezeichnete Gewebe stellt ein Mischgewebe dar (s. Text). Die Angabe der Aktivitäten erfolgt in µmol Substrat/min x g FG bei 25 °C ($\bar{x}$ ± SD, n = 3). (DH: Dehydrogenase; PEP: Phosphoenolpyruvat)

ENZYM	LÄNGS-MUSKULATUR	RING-MUSKULATUR	HAUTMUSKEL-SCHLAUCH	RETRAKTOREN
Phosphorylase	0,19 ± 0,06	0,08 ± 0,03	0,14	0,23 ± 0,20
Phosphorylase (aktiviert)	1,16 ± 0,21	0,52 ± 0,04	0,84	0,37 ± 0,14
Hexokinase	0,01 ± 0,01	0,14 ± 0,06	0,08	0,04 ± 0,02
Phosphofructo-kinase	7,76 ± 1,63	4,14 ± 1,26	5,95	6,09 ± 1,25
Fructose-1,6-bis-phosphatase	0,55 ± 0,17	0,67 ± 0,10	0,61	0,08 ± 0,03
Glycerinaldehyd-phosphat-DH	39,18 ± 9,50	21,24 ± 3,95	30,21	13,28 ± 1,90
Pyruvatkinase	61,75 ± 15,47	55,32 ± 9,14	58,54	23,79 ± 2,29
Laktat-DH	< 0,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
Octopin-DH	563,03 ± 107,92	327,76 ± 33,09	445,4	228,23 ± 58,92

Tab. 12 (Fortsetzung):

ENZYM	LÄNGS-MUSKULATUR	RING-MUSKULATUR	HAUTMUSKEL-SCHLAUCH	RETRAKTOREN
Malat-DH	23,96 ± 4,35	36,0 ± 2,62	29,98	23,40 ± 5,42
α-Glycerophosphat-DH	0,95 ± 0,16	0,54 ± 0,10	0,75	0,73 ± 0,24
PEP-Carboxykinase (carboxyl.)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
„Malat-Enzym" (carboxyl.)	0,48 ± 0,02	0,50 ± 0,10	0,49	0,26 ± 0,03
Argininkinase	526,47 ± 69,91	346,89 ± 42,66	436,7	687,15 ± 77,64
Citratsynthase	0,38 ± 0,07	0,67 ± 0,06	0,53	0,46 ± 0,01
Isocitrat-synthase (NAD)	—	—	—	—
Isocitrat-synthase (NADP)	0,13 ± 0	0,13 ± 0,02	0,13	0,27 ± 0,02
Succinat-DH	0,04 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,09	0,04 ± 0,01

1,26 U/g FG. Die Aktivität in der Ringmuskulatur lag dabei niedriger als in den Retraktoren, obwohl letztere einen geringeren Phosphorylasegehalt aufwiesen als die Ringmuskulatur.

Auffällig ist in diesem Zusammenhang auch, daß in der Ringmuskulatur mit 0,14 ± 0,06 U/g FG die höchste Hexokinaseaktivität und damit die höchste Kapazität für die Glucosephosphorylierung zu finden war, verglichen mit 0,01 ± 0,01 U/g FG in der Längsmuskulatur und 0,04 ± 0,02 U/g FG in den Retraktoren.

Die Kapazität für die Umsetzung von Fructose-1,6-bisphosphat in der Richtung der Gluconeogenese unterschied sich in Längs- und Ringmuskulatur nur wenig. Die Aktivität der Fructose-1,6-bisphosphatase betrug hier 0,55 ± 0,17 bzw. 0,67 ± 0,10 U/g FG. In den Retraktormuskeln war der Gehalt an Fructose-1,6-bisphosphatase mit 0,08 ± 0,03 U/g FG um den Faktor 6,9 bzw. 8,4 geringer als in den beiden anderen Geweben.

In der Ringmuskulatur ging mit der höheren Kapazität der Glucosephosphorylierung (s.o.) auch eine höhere aerobe Kapazität einher. Die Citratsynthase als Indikatorenzym für den Mitochondriengehalt (Pette, 1968) wies hier mit 0,67 ± 0,06 U/g FG eine höhere Aktivität auf als in der Längsmuskulatur (0,38 ± 0,07 U/g FG) und in den Retraktoren (0,46 ± 0,01 U/g FG). Die Succinatdehydrogenase, die ebenfalls nur in den Mitochondrien vorliegt, wies dementsprechend in der Ringmuskulatur mit 0,14 ± 0,01 U/g FG eine höhere Aktivität auf als in der Längsmuskulatur (0,04 ± 0,01 U/g FG) und in den Retraktoren (0,04 ± 0,01 U/g FG). Die NADP-abhängige Isocitratdehydrogenase kann dagegen sowohl in den Mitochondrien als auch im Cytosol vorliegen (Lehninger, 1975). Ihre Aktivität war in den Retraktoren mit 0,27 ± 0,02 U/g FG höher als in der Längs- und in der Ringmuskulatur, die beide eine Aktivität von 0,13 (± 0 bzw. ± 0,02) U/g FG aufwiesen. Die NAD-abhängige Isocitratdehydrogenase konnte in keinem Gewebe nachgewiesen werden.

Eine ähnliche Konzentrationsverteilung wie Citratsynthase und Succinatdehydrogenase zeigte die NAD-abhängige Malatdehydrogenase. Die Ringmuskulatur wies mit 36,0 ± 2,62 U/g FG den höchsten Gehalt auf. In Längs- und Retraktormuskulatur war die Aktivität mit 23,96 ± 4,35 bzw. 23,40 ± 5,42 U/g FG gleich.

Die Aktivität der Glycerophosphat-Dehydrogenase lag in allen Geweben unter 1 U/g FG. Ihr Gehalt war in der Längsmuskulatur mit 0,95 ± 0,16 U/g FG höher als in den Retraktoren (0,73 ± 0,24 U/g FG) und in der Ringmuskulatur (0,54 ± 0,10 U/g FG).

Vergleicht man in den drei untersuchten Geweben die Konzentrationen von Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und Octopindehydrogenase aus der anaeroben Glykolyse, so fällt auf, daß ihr Gehalt einheitlich in der Längsmuskulatur am höchsten war. Die Aktivitäten der Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und Octopindehydrogenase waren mit 39,18 ± 9,50 bzw. 563,03 ± 107,92 U/g FG in der Längsmuskulatur annähernd doppelt so groß wie in der Ringmuskulatur (21,24 ± 3,95 bzw. 327,76 ± 33,09 U/g FG) und 2,5 - 3-mal so groß wie in den Retraktoren (13,28 ± 1,90 bzw. 228,23 ± 58,92 U/g FG). Laktatdehydrogenaseaktivität konnte in keinem Gewebe eindeutig nachgewiesen werden.

Die Pyruvatkinase lag in der Ringmuskulatur mit 55,32 ± 9,14 U/g FG in einer ähnlich hohen Konzentration vor wie in der Längsmuskulatur mit 61,75 ± 15,47 U/g FG. In den Retraktoren erreichte ihre Aktivität mit 23,79 ± 2,29 U/g FG etwa ein Drittel der Aktivität in der Längsmuskulatur.

Der Gehalt an Argininkinase war in den Retraktoren mit 687,15 ± 77,64 U/g FG am höchsten. In der Längsmuskulatur lag er mit 526,47 ± 69,91 U/g FG etwas niedriger, und in der Ringmuskulatur war er mit 346,89 ± 42,66 U/g FG etwa halb so groß wie in den Retraktoren.

Als mögliche Schlüsselenzyme des Energiestoffwechsels bei biotopbedingter Anaerobiose wurden die Phosphoenolpyruvat-

Carboxykinase und das „Malat-Enzym" (Malatdehydrogenase, decarboxylierend, NADP) in der Carboxylierungsreaktion untersucht. Die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase konnte nur in sehr geringen Aktivitäten nachgewiesen werden, wohingegen das „Malat-Enzym" in Aktivitäten von 0,26 ± 0,02 U/g FG in den Retraktoren und 0,48 ± 0,02 bzw. 0,50 ± 0,10 U/g FG in der Längs- bzw. Ringmuskulatur vorlag. Das „Malat-Enzym" wies in seiner Aktivität zwischen pH 6,5 und 7,5 keine deutliche Abhängigkeit vom pH auf.

3.2. Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von der Sauerstoffversorgung

Die unter 3.1.1. aufgeführten Ergebnisse wurden bei Untersuchungen gewonnen, die den Energiestoffwechsel von *Sipunculus nudus* bei Anaerobiose unter Ruhebedingungen zum Gegenstand hatten. Im Anschluß an diese Untersuchungen stellte sich die Frage, wie der Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus* (unter Ruhebedingungen) vom Sauerstoffpartialdruck im Atemmedium abhängt. Um diese Frage zu beantworten, wurden sowohl der Sauerstoffverbrauch als auch Konzentrationsänderungen wichtiger Metabolite des anaeroben Energiestoffwechsels in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} gemessen.

3.2.1. Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren O_2-Partialdruck

Die Abhängigkeit des O_2-Verbrauches vom äußeren P_{O_2} wurde an lebenden Tieren, an isolierter Muskulatur und an isolierter Coelomflüssigkeit untersucht. Bei großen Tieren (Gewicht: 35,33 ± 1,15 g) wurde für jedes Tier eine Messung durchgeführt (s. Abb. 13). Der Sauerstoffverbrauch kleiner Tiere und der Muskulatur wurde an jeweils drei zusammengegebenen Tieren (Gewicht: 8,91 ± 2,05 g) bzw. Muskelpräparationen großer Tiere (Gewicht: 11,99 ± 0,35 g) gemessen (s. Abb. 14 bzw. 15).

Die großen Tiere verbrauchten bei 15° C und Luftsättigung (P_{O_2} = ca. 150 Torr) 15,48 ± 1,63 µl O_2/g x h (bzw. 691 nmol O_2/g x h), kleine Tiere verbrauchten 18,91 µl O_2/g x h (bzw. 844 nmol O_2/g x h) und isolierte Muskulatur 19,22 µl O_2/g x h (bzw. 858 nmol/g x h). Im Bereich von 150 bis 50 Torr O_2 nahm der Sauerstoffverbrauch in allen Fällen mehr oder weniger linear ab. Große Tiere verbrauchten bei P_{O_2} = 50 Torr noch 9,24 ± 0,19 µl/g x h (bzw. 413 nmol/g x h). Dies entspricht 60% des Verbrauches bei Luftsättigung. Kleine Tiere verbrauchten noch 9,62 µl bzw. 430 nmol/g x h. Dies entspricht 51% des anfänglichen Verbrauches. Die Muskelpräparationen reduzierten

ihren O_2-Verbrauch auf 8,91 µl/g x h (= 398 nmol/g x h) bzw. 46% des Verbrauches bei Luftsättigung.

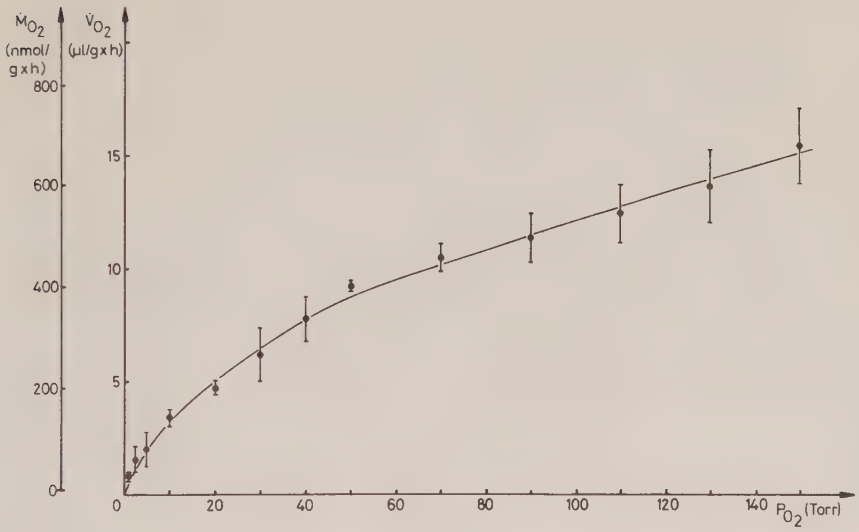


Abb. 13: Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren Sauerstoffpartialdruck, gemessen an drei großen Tieren bei 15° C ($\bar{x}$±SD).

Unterhalb von P_{O_2} = 50 Torr nahm der Sauerstoffverbrauch zunächst weiter linear, dann aber stärker in Richtung auf den Nullwert hin ab. Bei großen Tieren war schon unterhalb von 40 Torr bzw. 7,82 ± 1,0 µl/g x h (349 nmol O_2/g x h) ein hyperbelartiges Abknicken der Verbrauchskurve festzustellen. Bei kleinen Tieren war dieser Punkt eindeutig bei 20 Torr bzw. 6,09 µl/g x h (272 nmol O_2/g x h) erreicht. Die isolierte Muskulatur zeigte erst unterhalb von 10 Torr bzw. 3,75 µl/g x h (167 nmol/g x h) einen stärkeren Abfall des Sauerstoffverbrauches.

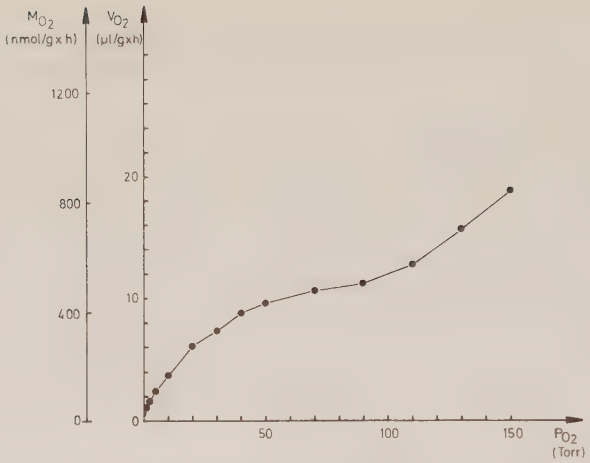


Abb. 14: Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren Sauerstoffpartialdruck, gemessen an drei kleinen Tieren bei 15° C.

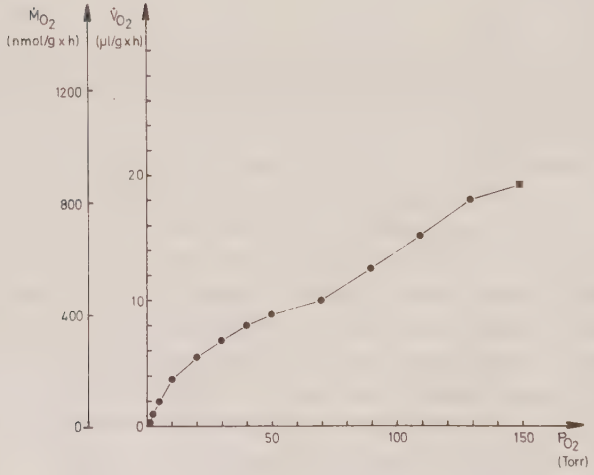


Abb. 15: Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren Sauerstoffpartialdruck, gemessen an drei Muskelpräparationen großer Tiere bei 15° C.

In Abb. 16 ist der Sauerstoffverbrauch der Coelomflüssigkeit großer Tiere in Abhängigkeit vom P_{O_2} dargestellt. Der Abbildung zufolge ergab sich eine nahezu lineare Abhängigkeit des O_2-Verbrauches vom P_{O_2}. Mit abnehmendem P_{O_2} knickte die Verbrauchskurve jedoch leicht ab, so daß bei theoretischer Verlängerung ein Verbrauch von 0 bei noch vorhandenem Sauerstoff (ca. 5 Torr) zu erwarten wäre. Bei vergleichender Betrachtung lag der O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit mit 2,98 µl/ml x h (133 nmol/ml x h) bei 60,5 Torr sehr viel niedriger als der O_2-Verbrauch isolierter Muskulatur, die bei demselben Partialdruck 9,5 µl/g x h (400 nmol/g x h) verbrauchte (s. Abb. 15). Im Vergleich zum Sauerstoffverbrauch der Muskulatur im lebenden Tier erscheint der Sauerstoffverbrauch der Coelomflüssigkeit vernachlässigbar gering (s. 4.1.1., S. 239).

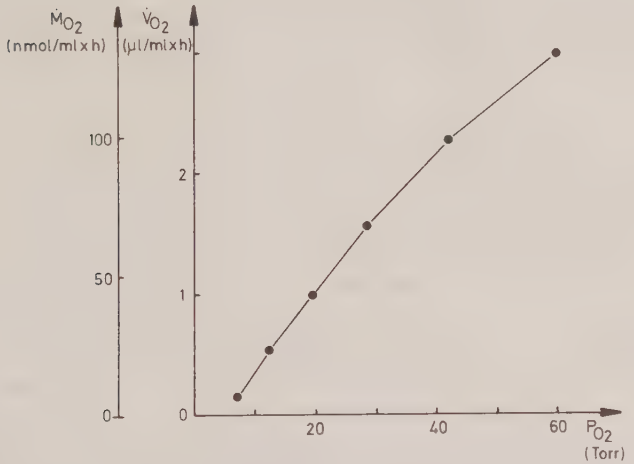


Abb. 16: Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom äußeren Sauerstoffpartialdruck, gemessen an der Coelomflüssigkeit von 5 großen Tieren bei 15° C. Der Volumenanteil der Zellen an der Coelomflüssigkeit betrug 20,5 %.

3.2.2. Metabolitkonzentrationen in Hautmuskelschlauch und Retraktoren nach Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken

Die Bestimmung der Konzentrationen charakteristischer Metabolite des anaeroben Energiestoffwechsels in Abhängigkeit vom O_2-Partialdruck im Seewasser sollte Aufschluß darüber geben, wann die O_2-Versorgung für *Sipunculus nudus* nicht mehr ausreicht, einen ausschließlich aeroben Energiestoffwechsel aufrechtzuerhalten. Kleine Tiere, deren Durchschnittsgewicht 7,81 ± 1,64 g betrug, wurden jeweils 24 h und 48 h bei verschiedenen O_2-Partialdrucken inkubiert und anschließend aufgearbeitet (s. 2.5.2.). Die Konzentrationen von Malat, Succinat, Propionat, Acetat, ATP, ADP, AMP, Phospho-L-Arginin und L-Arginin sind in den Tabellen 13 und 14 zusammengestellt. Da für jede Inkubationszeit nur zwei Tiere eingesetzt wurden, ist anstelle der Standardabweichung jeweils der Bereich angegeben, um den die beiden Meßwerte vom Mittelwert abweichen.

In Abb. 17 sind die Konzentrationen von Malat und Succinat nach 24 h und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken aufgetragen. Verfolgt man zunächst die Änderungen der Succinatkonzentration, so fand bei P_{O_2} = 37 Torr nach 24 h Inkubation sowohl im Hautmuskelschlauch als auch in den Retraktoren noch keine Änderung gegenüber der aeroben Kontrolle (P_{O_2} = 156,3 Torr) statt. Aus diesem Grunde wurde bei diesem Partialdruck keine 48-stündige Inkubation vorgenommen.

Bei 15 Torr reichte die O_2-Versorgung für die Aufrechterhaltung eines rein aeroben Energiestoffwechsels nicht mehr aus. Nach 24 h Inkubation war die Succinatkonzentration im Hautmuskelschlauch mit 0,16 ± 0,02 µmol/g FG gegenüber 0,10 ± 0,01 µmol/g FG der aeroben Kontrolle leicht erhöht. Nach 48 h wurden 0,51 ± 0,05 µmol/g FG erreicht. In den Retraktoren lag schon nach 24 h Inkubation bei 15 Torr eine mit 1,17 ± 0,04 µmol/g FG sehr viel höhere Succinatkonzentration

vor als im Hautmuskelschlauch. Innerhalb von 48 h wurde mit 1,06 ± 0,16 µmol/g FG kein höherer Wert erreicht. Diese starke Zunahme des Succinatgehaltes in den Retraktoren stimmt mit der Beobachtung überein, daß bei allen Tieren, die bei einem P_{O_2} von 15 Torr und weniger inkubiert worden waren, die Coelomflüssigkeit gelblich gefärbt war und somit der O_2-Partialdruck nahe 0 Torr lag (vergl. 3.3.1., S. 109 und Abb. 27, S. 114).

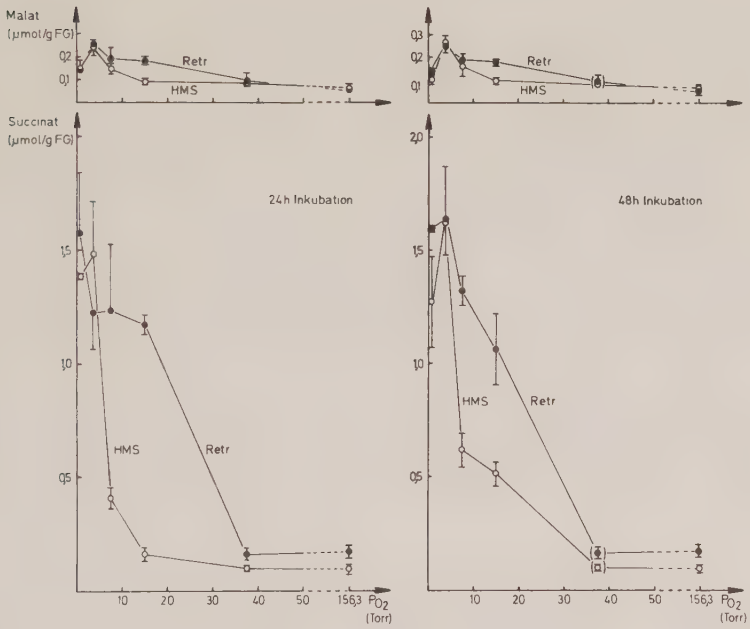


Abb. 17: Konzentrationsänderungen von Malat und Succinat im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) nach 24 und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken (n=2, T=15° C). Angegeben ist der Mittelwert und der Bereich, um den die Meßwerte vom Mittelwert abweichen.

Wurde der O_2-Partialdruck noch weiter erniedrigt, so stieg der Succinatgehalt im Hautmuskelschlauch weiter an. Bei 7,5 Torr lag die Konzentration nach 48 h mit 0,62 ± 0,07 µmol/g FG

Tab. 13: Konzentrationen von Aspartat, Malat, Succinat, Propionat und Acetat im Hautmuskelschlauch (HMS) und in den Retraktoren (Retr.) bei Inkubation der Tiere in Seewasser mit verschiedenen O_2-Partialdrucken, Inkubationsdauer 24 h (Tab. a) und 48 h (Tab. b). Angegeben sind der Mittelwert und der Bereich, um den die Meßwerte vom Mittelwert abweichen, in µmol/g FG (n = 2, T = 15 °C).

(a) P_{O_2} (Torr)	ASPARTAT		MALAT		SUCCINAT		PROPIONAT	ACETAT
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	HMS
156,3	1,23 ± 0,17	2,63 ± 0,37	0,067 ± 0,014	0,059 ± 0,005	0,10 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,64 ± 0,04
37,4	0,96 ± 0,02	2,58 ± 0,86	0,086 ± 0,009	0,093 ± 0,026	0,10 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,64 ± 0,04
15,0	0,62 ± 0,15	1,68 ± 1,02	0,090 ± 0,014	0,181 ± 0,018	0,16 ± 0,02	1,17 ± 0,04	0,46 ± 0,03	0,58 ± 0,08
7,5	0,69 ± 0,11	1,67 ± 0,07	0,145 ± 0,023	0,191 ± 0,047	0,41 ± 0,05	1,23 ± 0,30	0,74 ± 0,10	0,78 ± 0,08
3,7	0,57 ± 0,15	1,20 ± 0,06	0,244 ± 0,047	0,252 ± 0,016	1,48 ± 0,23	1,22 ± 0,16	1,16 ± 0,12	0,60 ± 0,01
0,8	0,43 ± 0,01	0,62 ± 0,12	0,149 ± 0,035	0,148 ± 0,004	1,38 ± 0	1,57 ± 0,27	1,53 ± 0,25	0,90 ± 0,07

(b) P_{O_2} (Torr)	ASPARTAT		MALAT		SUCCINAT		PROPIONAT	ACETAT
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	HMS
156,3	—	—	—	—	—	—	—	—
37,4	—	—	—	—	—	—	—	—
15,0	0,52 ± 0,04	0,81 ± 0,19	0,100 ± 0,014	0,181 ± 0,008	0,51 ± 0,05	1,06 ± 0,16	0,62 ± 0,05	0,69 ± 0,05
7,5	0,58 ± 0,07	0,42 ± 0,23	0,163 ± 0,042	0,184 ± 0,024	0,62 ± 0,07	1,32 ± 0,07	1,38 ± 0,04	1,11 ± 0,11
3,7	0,75 ± 0,11	1,26 ± 0,14	0,265 ± 0,030	0,252 ± 0,030	1,62 ± 0,14	1,63 ± 0,23	1,63 ± 0,29	0,76 ± 0,01
0,8	0,58 ± 0,04	0,61 ± 0,01	0,103 ± 0,017	0,140 ± 0,004	1,27 ± 0,20	1,59 ± 0,04	1,91 ± 0,02	1,15 ± 0,10

wiederum höher als nach 24 h mit 0,41 ± 0,05 µmol/g FG. Ein besonders starker Anstieg der Succinatkonzentration im Hautmuskelschlauch fand zwischen P_{O_2} = 7,5 und P_{O_2} = 3,7 Torr statt. Nach 24 h Inkubation bei 3,7 Torr wurden 1,48 ± 0,23 µmol/g FG und nach 48 h 1,62 ± 0,14 µmol/g FG erreicht. Zwischen 3,7 und 0,8 Torr fand kein weiterer Konzentrationsanstieg mehr statt, eher sogar eine leichte Konzentrationsabnahme. Nach 24 h bei 0,8 Torr wurden 1,38 ± 0 µmol/g FG und nach 48 h 1,27 ± 0,20 µmol/g FG erreicht. Bei 0,8 Torr fand damit auch erstmals kein Anstieg der Succinatkonzentration von 24 h bis 48 h Inkubation mehr statt.

In den Retraktoren lag die Phase des steilen Anstiegs der Succinatkonzentration wie oben geschildert bereits zwischen 37,4 und 15 Torr. Bei Erniedrigung des P_{O_2} auf Werte unterhalb von 15 Torr stieg der Succinatgehalt weiter an, wobei auch hier wie im Hautmuskelschlauch die Werte im höheren Konzentrationsbereich breiter streuten. Bei 7,5 und 3,7 Torr lag der Gehalt nach 48 h Inkubation mit 1,32 ± 0,07 bzw. 1,63 ± 0,23 µmol/g FG höher als nach 24 h mit 1,23 ± 0,30 bzw. 1,22 ± 0,16 µmol/g FG. Während nach 24 h Inkubation noch ein Anstieg von 3,7 Torr mit 1,22 ± 0,16 µmol/g FG nach 0,8 Torr mit 1,57 ± 0,27 µmol/g FG zu verzeichnen war, lagen die Werte nach 48 h Inkubation mit 1,63 ± 0,23 µmol/g FG bei 3,7 Torr und 1,59 ± 0,04 µmol/g FG bei 0,8 Torr im gleichen Konzentrationsbereich.

Die Malatbildung ist Abb. 9, S. 68 zufolge ebenso wie die Succinatbildung geeignet, den Übergang zur Anaerobiose anzuzeigen. Vergleicht man die Malatkonzentration in Hautmuskelschlauch und Retraktoren bei Normoxie (P_{O_2} = 156,3 Torr) und bei P_{O_2} = 37,4 Torr, so zeigte sich nach 24 h Inkubation bei dem niedrigeren O_2-Partialdruck bereits ein leichter Konzentrationsanstieg von 0,067 ± 0,014 auf 0,086 ± 0,009 µmol/g FG im Hautmuskelschlauch und von 0,059 ± 0,005 auf 0,093 ± 0,026 µmol/g FG in den Retraktoren (s. Abb. 17). Beim Übergang von 37,4 nach 15 Torr stieg der Malatgehalt in den Retraktoren während 24 h Inkubation von 0,093 ± 0,026 auf 0,181 ± 0,018

µmol/g FG und zeigte damit eindeutig eine Beteiligung des anaeroben Energiestoffwechsels an. Eine weitere Erhöhung der Malatkonzentration in den Retraktoren war während 48 h bei 15 Torr nicht festzustellen.

Im Hautmuskelschlauch blieb die Malatkonzentration nach 24 h Inkubation bei P_{O_2} = 15 Torr dagegen auf einem niedrigeren Niveau von 0,090 ± 0,014 µmol/g FG und stieg auch bei 48 h Inkubation nur geringfügig auf 0,100 ± 0,014 µmol/g FG an. Erst nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 7,5 Torr war auch im Hautmuskelschlauch ein stärkerer Konzentrationsanstieg auf 0,145 ± 0,023 µmol/g FG nach 24 h bzw. auf 0,163 ± 0,042 µmol/g FG nach 48 h festzustellen.

In den Retraktoren stieg der Malatgehalt bei 7,5 Torr verglichen mit dem Gehalt bei 15 Torr kaum weiter an. Nach 24 h lag die Konzentration bei 0,191 ± 0,047 und nach 48 h bei 0,184 ± 0,024 µmol/g FG.

Ein Maximum der Malatkonzentration wurde in beiden Geweben bei P_{O_2} = 3,7 Torr erreicht. Zwischen 24 h und 48 h Inkubation zeigten sich wie schon bei 15 und 7,5 Torr keine großen Unterschiede. Im Hautmuskelschlauch betrug die Malatkonzentration nach 24 h 0,244 ± 0,047 µmol/g FG und nach 48 h 0,265 ± 0,030 µmol/g FG, in den Retraktoren lag sie bei 0,252 ± 0,016 bzw. 0,252 ± 0,030 µmol/g FG.

Nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 0,8 Torr ergaben sich sehr viel niedrigere Malatkonzentrationen. Nach 24 h lag der Gehalt im Hautmuskelschlauch bei 0,149 ± 0,035 µmol/g FG, in den Retraktoren bei 0,148 ± 0,004 µmol/g FG. Nach 48 h war im Hautmuskelschlauch ein Konzentrationsabfall auf 0,103 ± 0,017 µmol/g FG festzustellen, der in den Retraktoren geringfügiger bis auf 0,140 ± 0,004 erfolgte. Damit zeigte die Malatkonzentration bei P_{O_2} = 0,8 Torr ein ähnliches Verhalten wie bei Inkubation nahe 0 Torr, bei der der Gehalt an Malat in den ersten Stunden zunächst angestiegen, dann aber kontinuierlich abgefallen war (s. Abb. 9, S. 68).

Abb. 18 zeigt die Konzentrationen von Propionat im Hautmuskelschlauch nach 24 h bzw. 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken. Bei einem P_{O_2} von 37,4 Torr änderte sich der Propionatgehalt mit 0,07 ± 0,02 µmol/g FG gegenüber der aeroben Kontrolle mit 0,06 ± 0,02 µmol/g FG nicht. Nach einer Inkubation bei 15 Torr trat jedoch beim Propionat schon nach 24 h mit 0,46 ± 0,03 µmol/g FG eine höhere Konzentration auf als beim Succinat mit 0,16 ± 0,02 µmol/g FG (s.o.). Nach 48 h wurde ein Wert von 0,62 ± 0,05 µmol/g FG erreicht.

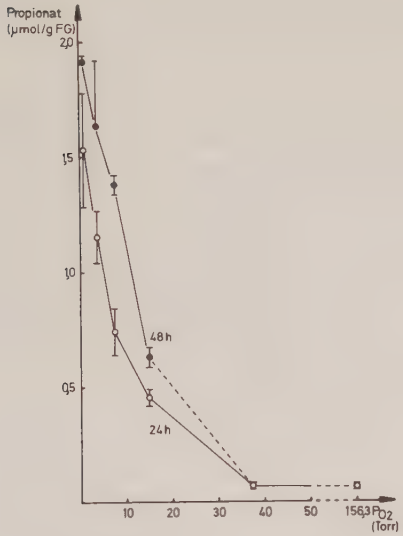


Abb. 18:
Konzentrationsänderungen des Propionates im Hautmuskelschlauch nach 24 und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken (T=15° C, n=2, vergl. Abb. 17).

Mit abnehmendem P_{O_2} im Atemmedium stieg der Propionatgehalt im Hautmuskelschlauch weiter an. Nach 48 h Inkubation wurde dabei regulär eine höhere Konzentration gefunden als nach 24 h. Die Differenz der Konzentrationen war dabei bei P_{O_2} = 7,5 Torr mit 0,74 ± 0,10 µmol/g FG nach 24 h und 1,38 ± 0,04 µmol/g FG nach 48 h am größten. Die höchsten Propionatkonzentrationen wurden nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 0,8 Torr mit 1,53 ± 0,25 µmol/g FG nach 24 h und 1,91 ± 0,02 µmol/g FG nach 48 h erreicht.

Stichprobenartige Messungen des Propionatgehaltes im Inkubationswasser ergaben, daß das Propionat bei abnehmendem P_{O_2} erstmalig nach 48 h Inkubation bei P_{O_2} = 7,5 Torr ausgeschieden worden war. Die ausgeschiedene Menge betrug 0,57 µmol/g Körpergewicht bzw. 1,19 µmol/g FG (bezogen auf das Gewebe). Unter gleichen Bedingungen betrug die Konzentration im Hautmuskelschlauch 1,38 ± 0,004 µmol/g FG (s.o.). Nach 24 h Inkubation bei 7,5 Torr entsprach die ausgeschiedene Menge mit 0,04 µmol/g Körpergewicht (bei 0,74 µmol/g FG im Hautmuskelschlauch, s.o.) noch der Konzentration, die im Inkubationswasser aerob gehälterter Tiere gefunden wurde (s. Tab. 8, S. 77).

Ein Konzentrationsanstieg des Acetats konnte im Hautmuskelschlauch im Gegensatz zum Propionat erst nach 24 h und 48 h Inkubation bei 7,5 Torr nachgewiesen werden (s. Abb. 19).

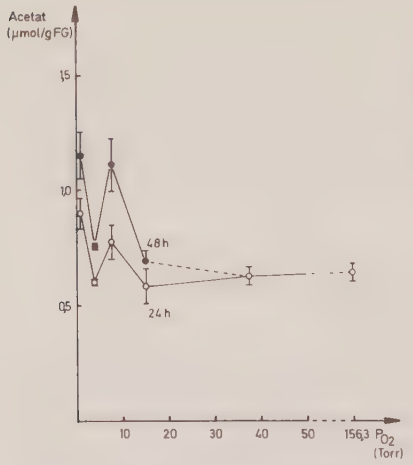


Abb. 19:
Konzentrationsänderungen des Acetates im Hautmuskelschlauch nach 24 h und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken (T=15° C, n=2, vergl. Abb. 17).

Der aerobe Kontrollwert lag bei 0,64 ± 0,04 µmol/g FG. Nach 24 h bei 7,5 Torr lag mit 0,78 ± 0,08 µmol/g FG eine nur leicht erhöhte Acetatkonzentration vor. Nach 48 h wurden 1,11 ± 0,11 µmol/g FG erreicht. Während dieser Zeit wurde Acetat wie Propionat auch erstmals verstärkt ausgeschieden. Lag nach

24 h die ausgeschiedene Menge mit 0,18 µmol/g Körpergewicht noch in der Nähe des aeroben Betrages von 0,21 µmol/g Körpergewicht, so fanden sich nach 48 h unter 7,5 Torr 0,46 µmol/g Körpergewicht bzw. 0,96 µmol/g FG (bezogen auf das Gewebe).

Bei weiterer Reduktion des P_{O_2} auf 3,7 Torr lag die Acetatkonzentration nach 24 h allerdings mit 0,60 ± 0,01 µmol/g FG noch in der Nähe des aeroben Kontrollwertes und erreichte erst nach 48 h einen demgegenüber geringfügig erhöhten Wert von 0,76 ± 0,01 µmol/g FG. Ein weiterer Anstieg des Acetatgehaltes fand sich jedoch nach 24 h und 48 h Inkubation bei P_{O_2} = 0,8 Torr. Nach 24 h wurden im Hautmuskelschlauch 0,90 ± 0,07 und nach 48 h 1,15 ± 0,10 µmol/g FG erreicht.

Neben den Konzentrationen der Zwischen- und Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels Malat, Succinat, Propionat und Acetat wurden auch die Konzentrationsänderungen von Aspartat als Substrat des anaeroben Stoffwechsels untersucht (s. Abb. 20).

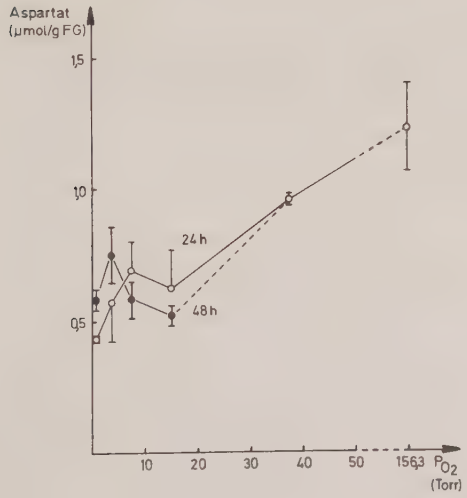


Abb. 20:
Konzentrationsänderungen des Aspartates im Hautmuskelschlauch nach 24 h und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrukken (T=15° C, n=2, vergl. Abb. 17).

Tab. 14: Veränderungen im Energiehaushalt des Hautmuskelschlauches (HMS) und der Retraktoren (Retr.) bei Inkubation der Tiere in Seewasser mit verschiedenen O_2-Partialdrucken, Inkubationsdauer 24 h (Tab. a) und 48 h (Tab. b), Konzentrationen in µmol/g FG. (vergl. Tab. 13)

(a) P_{O_2} (Torr)	PHOSPHO-L-ARGININ		L-ARGININ		[PLA]/[L-ARG]		E.CH.	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
156,3	33,07 ± 1,60	20,44 ± 2,33	6,94 ± 0,82	6,08 ± 1,18	4,82 ± 0,74	3,57 ± 1,08	0,92 ± 0,01	0,94 ± 0,01
37,4	32,77 ± 0,71	20,91 ± 4,35	6,31 ± 0,73	7,04 ± 0,91	5,25 ± 0,49	2,94 ± 0,24	0,92 ± 0,01	0,93 ± 0,01
15,0	33,51 ± 1,68	15,67 ± 1,42	11,56 ± 2,41	6,45 ± 1,03	3,0 ± 0,48	2,53 ± 0,62	0,95 ± 0,01	0,94 ± 0,01
7,5	32,68 ± 5,16	17,54 ± 1,90	9,23 ± 2,81	8,06 ± 1,04	3,71 ± 0,57	2,19 ± 0,04	0,94 ± 0,01	0,94 ± 0,02
3,7	26,54 ± 1,94	13,40 ± 1,24	12,56 ± 0,12	11,57 ± 0,30	2,11 ± 0,10	1,19 ± 0,14	0,92 ± 0,01	0,94 ± 0,01
0,8	20,42 ± 4,92	10,29 ± 0,23	20,24 ± 2,89	16,36 ± 1,73	1,07 ± 0,40	0,64 ± 0,05	0,91 ± 0,01	0,90 ± 0,01

(b) P_{O_2} (Torr)	PHOSPHO-L-ARGININ		L-ARGININ		[PLA]/[L-ARG]		E.CH.	
	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.	HMS	Retr.
156,3	—	—	—	—	—	—	—	—
37,4	—	—	—	—	—	—	—	—
15,0	29,11 ± 4,87	15,63 ± 0,57	14,62 ± 4,15	9,07 ± 1,32	2,07 ± 0,25	1,77 ± 0,32	0,95 ± 0	0,93 ± 0,01
7,5	22,85 ± 4,34	13,85 ± 4,57	16,25 ± 3,71	14,89 ± 1,03	1,55 ± 0,62	0,91 ± 0,24	0,95 ± 0,01	0,95 ± 0,01
3,7	26,79 ± 0,27	14,99 ± 1,70	13,69 ± 1,36	11,74 ± 0,41	1,98 ± 0,18	1,29 ± 0,19	0,92 ± 0,01	0,95 ± 0
0,8	26,01 ± 2,21	10,80 ± 0,04	17,76 ± 2,10	14,94 ± 1,17	1,47 ± 0,05	0,73 ± 0,07	0,90 ± 0,02	0,91 ± 0,02

Aspartat zeigte wie Malat im Hautmuskelschlauch bereits nach 24 h Inkubation bei P_{O_2} = 37,4 Torr einen leichten Konzentrationsunterschied zum aeroben Kontrollwert. Nach 24 h Normoxie betrug der Aspartatgehalt 1,23 ± 0,17 µmol/g FG. Nach 24 h bei 37,4 Torr wurden 0,96 ± 0,02 µmol/g FG erreicht. Bei P_{O_2} = 15 Torr nahm die Aspartatkonzentration nach 24 h Inkubation weiter bis auf 0,62 ± 0,15 µmol/g FG ab. Nach 48 h wurde eine demgegenüber nur noch geringfügig erniedrigte Konzentration von 0,52 ± 0,04 µmol/g FG gefunden. Aufgrund der auftretenden Streuung sind die bei Inkubationen unterhalb von 15 Torr gefundenen Aspartatkonzentrationen nicht eindeutig zu unterscheiden. Verallgemeinert läßt sich sagen, daß bei 15 Torr und darunter nach 24 h keine wesentliche Metabolisierung des Aspartates mehr stattfand.

Der Energiehaushalt zeigte bei abnehmendem O_2-Partialdruck nur beim Phosphagen eine Beeinflussung durch den zunehmenden Sauerstoffmangel (s. Tab. 14 a und b). Mit der einsetzenden Beteiligung des anaeroben Energiestoffwechsels beim Übergang von P_{O_2} = 37,4 nach 15 Torr nahm nach 24 h Inkubation auch der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin im Hautmuskelschlauch von 5,25 ± 0,49 auf 3,0 ± 0,48 ab (s. Abb. 21). Nach 48 h bei 15 Torr wurde ein Wert von 2,07 ± 0,25 erreicht. In den Retraktoren zeigte sich nach 48 h Inkubation bei 15 Torr mit einem Quotienten von 1,77 ± 0,32 gegenüber 3,57 + 1,08 bei der aeroben Kontrolle ebenfalls eine deutliche energetische Beanspruchung.

Mit abnehmendem O_2-Partialdruck nahm der Quotient in beiden Geweben zunächst immer weiter ab. Bei P_{O_2} = 7,5 Torr zeigte sich wie bei 15 Torr noch eine Abhängigkeit von der Inkubationsdauer. Nach 24 h wurde im Hautmuskelschlauch ein Wert von 3,71 ± 0,57 und nach 48 h ein Quotient von 1,55 ± 0,62 erreicht. In den Retraktoren betrugen die entsprechenden Werte 2,19 ± 0,04 bzw. 0,91 ± 0,24. Bei Begasung mit 3,7 und 0,8 Torr O_2 wichen die Quotienten nach 24 h und 48 h Inkubation nicht mehr so stark voneinander ab. Bei einem P_{O_2} von 3,7 Torr ergaben sich für den Hautmuskelschlauch 2,11 ±

0,10 nach 24 h und 1,98 ± 0,18 nach 48 h. In den Retraktoren fiel der Quotient bei demselben P_{O_2} während 24 h auf 1,19 ± 0,14 und während 48 h auf 1,29 ± 0,19. Bei 0,8 Torr lagen die Werte für die beiden Inkubationszeiten im Hautmuskelschlauch bei 1,07 ± 0,40 bzw. 1,47 ± 0,05 und in den Retraktoren bei 0,64 ± 0,05 bzw. 0,73 ± 0,07. Den Ergebnissen zufolge trat also bei 0,8 Torr von 24 bis 48 h eine leichte, nicht signifikante Zunahme des Quotienten auf.

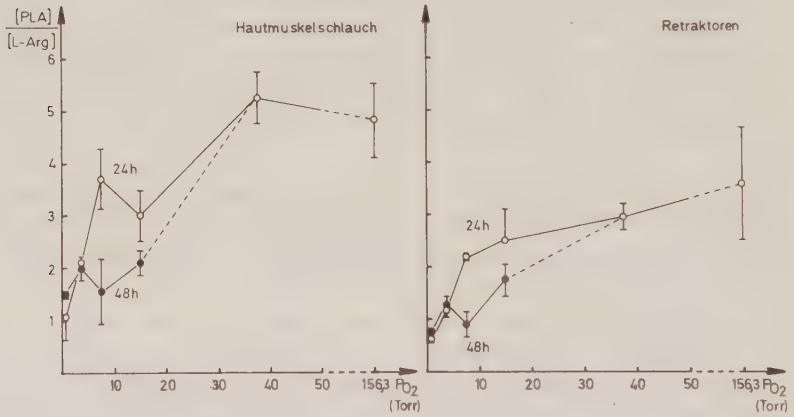


Abb. 21: Veränderungen des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin im Hautmuskelschlauch und in den Retraktoren nach 24 h und 48 h Inkubation bei verschiedenen O_2-Partialdrucken (T=15° C, n=2, vergl. Abb. 17).

Das Adenylatsystem zeigte, wenn überhaupt, erst nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 0,8 Torr geringfügige Änderungen (s. Tab. 14). Der Energieinhalt (Energy charge) fiel bei diesem P_{O_2} während 48 h ausgehend von 0,92 ± 0,01 bei der aeroben Kontrolle auf 0,90 ± 0,02. In den Retraktoren wurde nach 48 h ausgehend von 0,94 ± 0,01 ein Wert von 0,91 ± 0,02 erreicht.

3.3. Zur quantitativen Rolle des Haemerythrins bei der Sauerstoffversorgung

3.3.1. O_2-Bindungskurve *in vitro* und *in vivo*

Schon sehr früh wurde beobachtet, daß das Atempigment von *Sipunculus nudus* in Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung die Farbe wechselt (Delle Chiaie, 1823; zitiert nach Boeri und Ghiretti-Magaldi, 1957). Das Haemerythrin zeigt in Gegenwart von Sauerstoff eine rotviolette Färbung, die bei Abwesenheit von Sauerstoff in eine gelbliche Färbung übergeht. Ein hoher Anteil der gelblichen Färbung wurde bei Tieren beobachtet, die bei P_{O_2} = 15 Torr inkubiert worden waren (s. 3.2.2., S. 99). In diesem Zusammenhang stellte sich die Frage, welche quantitative Rolle bei der Sauerstoffversorgung dem Haemerythrin in Abhängigkeit vom äußeren O_2-Partialdruck zukommt.

Florkin (1933) hatte bereits die Bindung des Sauerstoffes am Haemerythrin untersucht, jedoch bei Temperaturen, die von der in den vorliegenden Experimenten gewählten Temperatur von 15° C abwichen. Bates et al. (1968) untersuchten die Sauerstoffbindung an Haemerythrinlösungen. Eine erneute Untersuchung der Sauerstoffbindung bei 15° C an intrazellulär vorliegendem Haemerythrin erschien daher im Rahmen einer weitergehenden Analyse der Sauerstoffversorgung von *Sipunculus nudus* sinnvoll.

Die Affinität des Haemerythrins zum Sauerstoff wurde einmal durch Messungen an isolierter Coelomflüssigkeit *in vitro* und zum anderen durch Entnahme von Coelomflüssigkeitsproben *in vivo* analysiert (s. 2.3.8.). Abb. 22 zeigt die beiden auf diese Weise erstellten Sauerstoffbindungskurven.

Beide Kurven nehmen offensichtlich einen hyperbolischen Verlauf, wobei sie sich im Sättigungsbereich asymptotisch dem Sättigungswert nähern. Zur Bestimmung der Sättigungswerte wurden die ermittelten Daten daher doppelt reziprok aufgetragen (s. Abb. 23 + 24). *In vitro* betrug die Sauerstoffbindungskapazität der Coelomflüssigkeit bei einem Hämatokrit von 9%

2,35 Vol% bzw. 1,95 mmol/l. *In vivo* wurde bei einem Hämatokrit von 7% eine Sauerstoffbindungskapazität von 2,0 ± 0,18 Vol% bzw. 0,89 ± 0,08 mmol/l gefunden. Für beide Experimente ergibt sich eine mittlere Bindungskapazität von 0,27 Vol% / Hämatokrit% bzw. 0,12 mmol/l x Hämatokrit%.

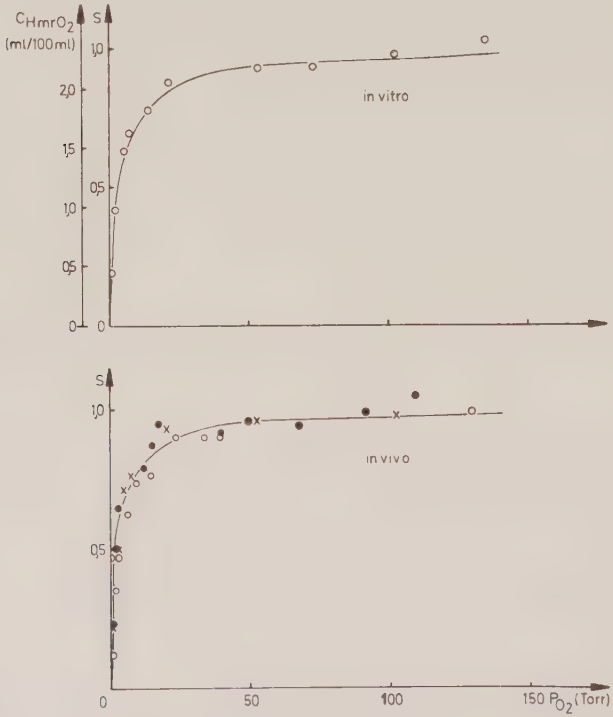


Abb. 22: Sauerstoffbindungskurve des Haemerythrins bei 15° C in vitro und in vivo. Aufgetragen ist der Gehalt an gebundenem Sauerstoff (C_{HmrO_2}) bzw. die Sättigung S als Bruchteil von 1 gegen den P_{O_2}. In vitro wurde die Coelomflüssigkeit von 5 großen Tieren gemischt und tonometriert. In vivo wurden P_{O_2} und O_2-Gehalt an drei großen Tieren bestimmt.
Jedes Symbol repräsentiert ein individuelles Tier.

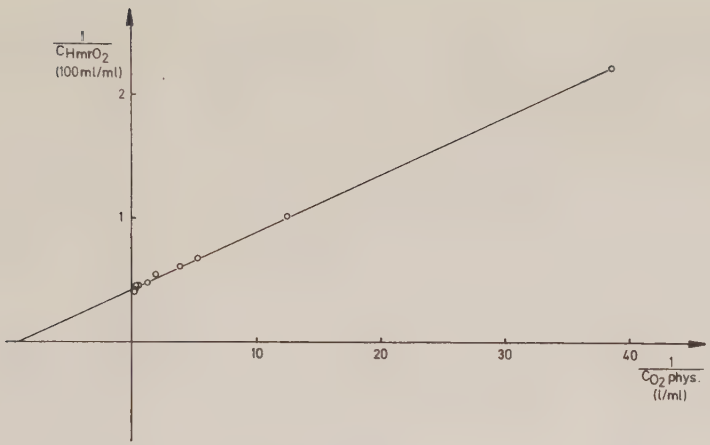


Abb. 23: Doppelt reziproke Darstellung der Beziehung zwischen dem in vitro ermittelten Gehalt an pigmentgebundenem Sauerstoff (C_{HmrO_2}) und dem Gehalt an physikalisch gelöstem Sauerstoff ($C_{O_2\,phys}$) in der Coelomflüssigkeit.

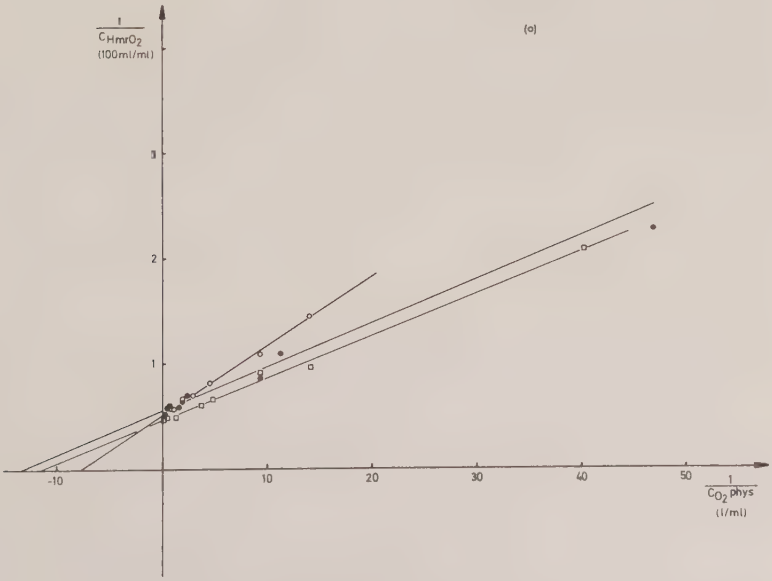


Abb. 24: wie Abb. 23. Zugrundegelegt sind die in vivo ermittelten Daten. Jedes Symbol repräsentiert ein individuelles Tier.

Mit Hilfe der mittleren O_2-Bindungskapazität ließen sich die Unterschiede in der O_2-Bindungskapazität der Coelomflüssigkeit großer und kleiner Tiere ermitteln. Die Coelomflüssigkeit großer Exemplare von *Sipunculus nudus* (Gewicht: 31,35 ± 8,08 g, n = 28) besaß bei einem Hämatokrit von 7,80 ± 2,33% eine O_2-Bindungskapazität von 2,13 ± 0,64 Vol% bzw. 0,95 ± 0,29 mmol/l (bei 15 °C). Die Coelomflüssigkeit kleiner Exemplare (Gewicht: 10,27 ± 2,59 g, n = 11) besaß demgegenüber bei einem Hämatokrit von 4,05 ± 1,96% eine geringere O_2-Bindungskapazität von 1,11 ± 0,54 Vol% bzw. 0,50 ± 0,24 mmol/l.

Mit Hilfe der *in vivo* ermittelten Sättigungswerte (s. Abb. 24) wurde für jeden Punkt der Bindungskurve die Sättigung S als Bruchteil von 1 ($S = HmrO_2 / (Hmr + HmrO_2)$) ermittelt. Auf diese Weise konnten die *in vivo* gefundenen Meßwerte zu einer Bindungskurve zusammengestellt werden. Diese Bindungskurve unterschied sich in ihrem Verlauf nicht von der *in vitro* erstellten Bindungskurve (s. Abb. 22).

In Abb. 25 und 26 wurde S/1-S logarithmisch gegen den P_{O_2} aufgetragen (Hill-Diagramm). Die Steigung der so in eine Gerade transformierten Bindungskurve gibt Auskunft über den Verlauf der Bindungskurve und damit über gegebenenfalls auftretende kooperative Effekte. Für den Versuch *in vitro* ergab sich ein Hill-Koeffizient von 0,977, für den Versuch *in vivo* ein Koeffizient von 1,013 ± 0,032. Da die Koeffizienten nur geringfügig von 1 abweichen, ließ sich auf diese Weise bestätigen, daß die O_2-Bindungskurve des Haemerythrins bei 15 °C einen hyperbolischen Verlauf nimmt. Kooperative Effekte traten also nicht auf.

Sowohl mit Hilfe der doppelt reziproken Auftragung (s. Abb. 23 und 24), als auch mit Hilfe des Hill-Diagrammes (s. Abb. 25 und 26) konnte der P_{50} als O_2-Halbsättigungsdruck ermittelt werden. Bei der Auswertung von Abb. 23 und 24 ergab sich *in vitro* ein P_{50} von 3,11 Torr und *in vivo* ein P_{50} von 2,76 ± 0,77 Torr. Die mit Hilfe der Hill-Diagramme ermittelten Werte stimmten damit überein. *In vitro* ergab sich ein P_{50} von 3,25 Torr, *in vivo* ein P_{50} von 2,71 ± 0,77 Torr. Dem Kurvenverlauf in Abb. 22 zufolge wurde bei P_{O_2} = 20 Torr eine Sättigung von 85 - 90% des Pigmentes erreicht, die sich bis 50 Torr auf ca. 95 % steigerte.

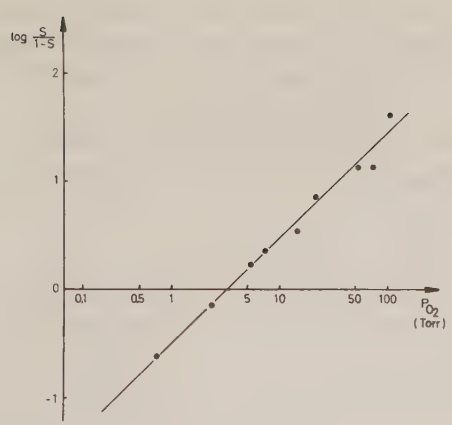


Abb. 25:
Hill-Diagramm: logarithmische Auftragung von S/1-S gegen den P_{O_2} auf der Grundlage der in vitro ermittelten Sauerstoffbindungsverhältnisse am Haemerythrin.

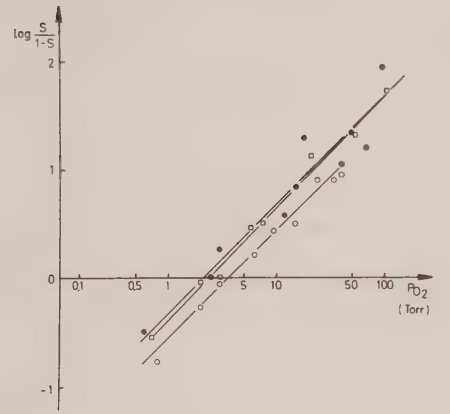


Abb. 26:
wie Abb. 25.
Die Auftragung erfolgte auf der Grundlage der in vivo ermittelten Sauerstoffbindungsverhältnisse am Haemerythrin.
Jedes Symbol repräsentiert ein individuelles Tier.

3.3.2. Abhängigkeit des O_2-Partialdruckes im Coelom vom äußeren P_{O_2}

Die Ergebnisse von 3.3.1. zeigen, daß bereits bei P_{O_2} = 20 Torr im Coelom eine weitgehende Sättigung des Atempigmentes mit Sauerstoff erreicht wird. Damit stellt sich die Frage, bei welchen äußeren P_{O_2}-Werten Sauerstoff vom Haemerythrin freigesetzt wird, wann also das Haemerythrin zur O_2-Versorgung beiträgt. Um diese Frage in experimenteller Annäherung beant-

worten zu können, wurde die Abhängigkeit des O_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit vom P_{O_2} im Atemmedium Seewasser untersucht. Das Experiment wurde mit großen Tieren (Gewicht: 34,03 ± 4,05 g, n = 4) und mit kleinen Tieren (Gewicht: 8,35 ± 1,47 g, n = 4) durchgeführt, die sich während des Versuches im Ruhezustand befanden (s. 2.3.5.).

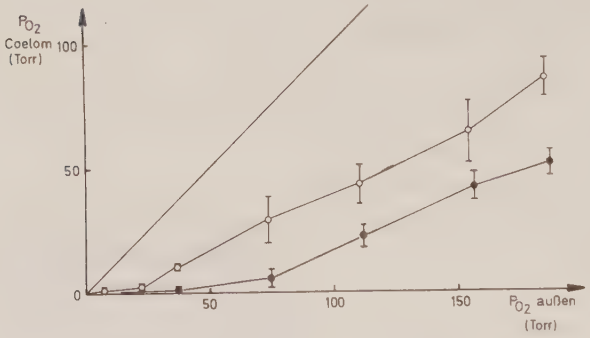


Abb. 27: Abhängigkeit des P_{O_2} im Coelom vom äußeren Sauerstoffpartialdruck. (o-o) kleine Tiere, (●-●) große Tiere ($\bar{x}$±SD, T=15° C). Die Diagonale stellt die Sauerstoffisobare dar.

Der P_{O_2} im Coelom nahm bei allen untersuchten Tieren ausgehend von hohen äußeren P_{O_2} - Werten zunächst linear mit dem O_2-Partialdruck im Seewasser ab, um sich dann langsamer dem Nullwert zu nähern (s. Abb. 27). Dabei lag der P_{O_2} im Coelom der kleinen Tiere bei hohen äußeren P_{O_2} - Werten um 20 bis 25 Torr höher als im Coelom der großen Tiere. Bei Normoxie betrug der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit der kleinen Tiere z.B. 63,95 ± 12,21 Torr, in der Coelomflüssigkeit der großen Tiere dagegen 41,98 ± 5,50 Torr. Aufgrund der generell niedrigeren Werte im Coelom trat bei den großen Tieren schon bei äußeren O_2-Partialdrucken unterhalb von 74,8 Torr und P_{O_2} = 5,50 ± 3,67 Torr in der Coelomflüssigkeit eine Abweichung von der linearen Abhängigkeit auf. Bei einem äußeren P_{O_2} von 37,4 Torr hatte der O_2-Partialdruck im Coelom 0,80 ± 0,69 Torr erreicht.

Bei den kleinen Tieren konnte erst unterhalb von P_{O_2} = 22,2 Torr im Wasser und 2,25 ± 0,87 Torr in der Coelomflüssigkeit

eine Abweichung von der linearen Abhängigkeit festgestellt werden. Bei P_{O_2} = 7,4 Torr im Wasser wurde in der Coelomflüssigkeit ein Wert von 0,63 ± 0,25 Torr gemessen.

Vergleicht man die Sauerstoffbindungskurve mit den P_{O_2} - Werten im Coelom (s. Abb. 28), die in Abhängigkeit von äußeren O_2-Partialdrucken gemessen wurden, so zeigt sich, daß bei den großen Tieren bereits bei einem P_{O_2} von 105 Torr im Atemwasser ein P_{O_2} von 20 Torr in der Coelomflüssigkeit unterschritten war.

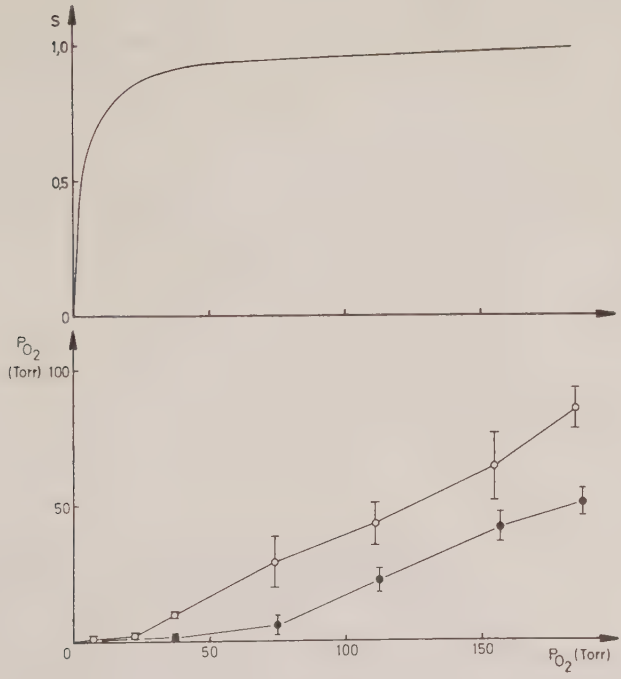


Abb. 28: Sauerstoffbindungskurve des Haemerythrins (oben, vergl. Abb. 22); Abhängigkeit des P_{O_2} im Coelom vom äußeren P_{O_2} (unten, vergl. Abb. 27). Die Gegenüberstellung zeigt, wie sich die Sättigung S des Pigmentes in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} ändert.

Bei weiterem Abfall des äußeren P_{O_2} wurde also zunehmend Sauerstoff vom Haemerythrin freigesetzt. Bei P_{O_2} = 50 - 60 Torr im Wasser wurde im Coelom der P_{50} erreicht und bei P_{O_2} = 40 Torr im Wasser wurden ca. 80 % der bei vollständiger Sättigung gebundenen Sauerstoffmenge freigesetzt.

Bei den kleinen Tieren war dagegen erst bei einem P_{O_2} von 55 Torr im Atemwasser ein P_{O_2} von 20 Torr erreicht, und 80 % der bei vollständiger Sättigung gebundenen Menge wurden bei einem äußeren P_{O_2} von ca. 10 Torr freigesetzt (vergl. Abb. 28).

Der P_{O_2}, der sich abhängig vom äußeren P_{O_2} im Coelom einstellt, gibt auch Aufschluß über die Sauerstoffversorgung der Retraktoren in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2}. Unter 3.2.2. wurden u.a. die Zusammenhänge zwischen P_{O_2} im Atemwasser und Energiestoffwechsel der Retraktoren geschildert. Da diese Zusammenhänge an kleinen Tieren untersucht worden waren, wurden die Succinatbildung in den Retraktoren und der P_{O_2} im Coelom kleiner Tiere in Abb. 29 zusammen in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} aufgetragen.

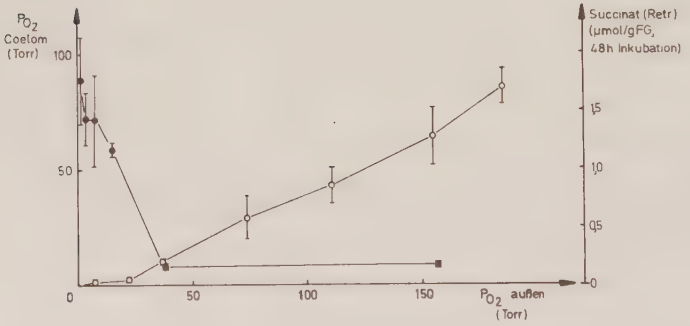


Abb. 29: Beziehung zwischen der Succinatbildung in den Retraktoren (●-●), dem P_{O_2} im Coelom (o-o) und dem äußeren P_{O_2} am Beispiel kleiner Tiere.

Nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 37,4 Torr war laut Abb. 17, S. 99, noch keine, bei P_{O_2} = 15 Torr dagegen eine intensive Succinatbildung in den Retraktoren gefunden worden. Bei einem äußeren P_{O_2} von 37,0 Torr lag der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit bei 9,95 ± 0,95 Torr und bei 15 Torr bereits unterhalb von 2 Torr. Unterhalb von ca. 9 Torr im Coelom begann also die Succinatbildung in den Retraktoren. Betrachtet man das Wasser

als das für die O_2-Versorgung des Hautmuskelschlauches wichtige Medium, so setzte in diesem Gewebe im Gegensatz zu den Retraktoren schon bei P_{O_2} = 15 Torr die Succinatbildung ein.

3.4. Beobachtungen zur Lebensweise des *Sipunculus nudus*

Bei den bisher geschilderten Untersuchungen konnten grundlegende Kenntnisse über die Vorgänge im Energiestoffwechsel bei biotopbedingter und funktionsbedingter Anaerobiose, über die Abhängigkeit des biotopbedingten Anaerobiosestoffwechsels von der Sauerstoffversorgung und über die Beteiligung des Haemerythrins an der Sauerstoffversorgung gewonnen werden. Die ersten Untersuchungen des Energiestoffwechsels wurden unter den extremen Bedingungen einer maximal möglichen Hypoxie und der maximalen Aktivität durchgeführt (s. 3.1.). Bei den weiteren Untersuchungen zum Sauerstoffbedarf von *Sipunculus nudus* (s. 3.2.) und zur Rolle des Haemerythrins bei der Sauerstoffversorgung (s. 3.3.) befanden sich die Tiere wie während der Anaerobiose immer im freien Wasser, ein Umstand, der sicherlich nicht den natürlichen Bedingungen im Biotop entsprach, der aber eine definierte Veränderung z.B. des O_2-Partialdruckes ermöglichte.

In weiteren Experimenten wurden nun die natürlichen Bedingungen insoweit berücksichtigt, als katheterisierte Tiere die Möglichkeit erhielten, sich in den Sand einzugraben (s. 3.5.). Dort wurden sie verschiedenen Bedingungen ausgesetzt. Vor der Durchführung solcher Versuche mußten zunächst Kenntnisse über wichtige Verhaltensweise der Tiere im Sand gewonnen werden.

3.4.1. Aktivitätsphasen

Die Aktivität der Tiere wurde mit Hilfe von arteriellen Druckaufnehmern aufgezeichnet. Die visuellen Beobachtungen wurden an Tieren durchgeführt, die sich in einem Glasbecken mit Sand entlang der äußeren Glasscheibe eingruben. Die Bildfolge 30 - 32 zeigt ein Tier, das sich in dem verwandten Schaubecken eingräbt. Im Experiment bewegten sich die Tiere so lange im Sand fort, bis sie an ein Hindernis stießen. Anschließend gruben sie aufwärts bis zur Sandoberfläche, verfestigten die Wand des aufwärts strebenden Grabkanales durch schlängelnde Bewegungen des Vorderkörpers einschließlich des Introvertes

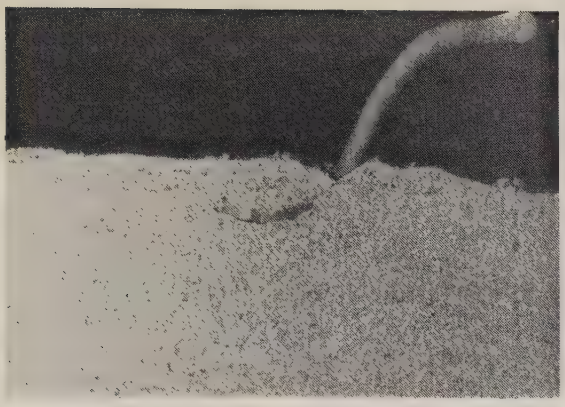


Abb. 30:
Sipunculus nudus, katheterisiert, nach den ersten Grabbewegungen im Sediment. Am Vorderende ist andeutungweise ein Ringwulst zu erkennen, der der Ankerbildung im Sand dient.

Abb. 31:
Fortbewegung im Sediment.

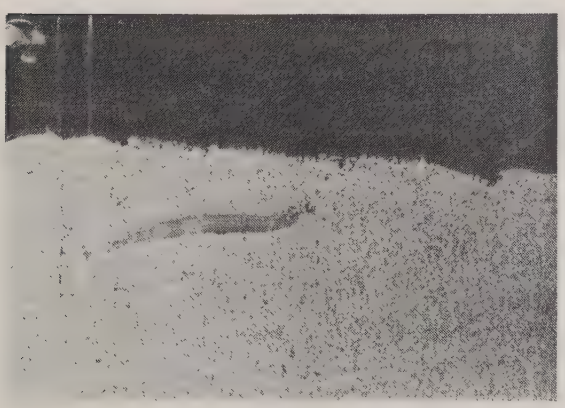


Abb. 32:
Der Wurm stößt an ein Hindernis (Plexiglasstreifen im Sand), die Tentakeln sind ausgefahren.

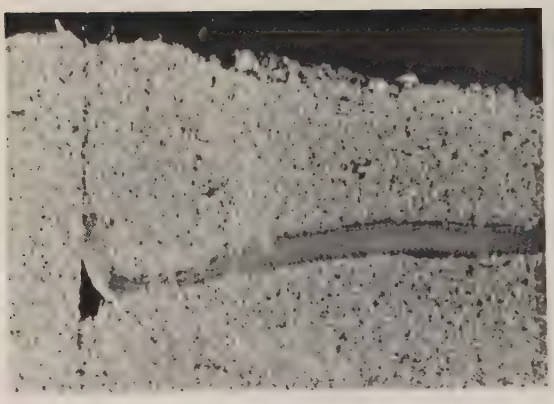


Abb. 33:
Der Wurm gräbt am Hindernis aufwärts.

Abb. 34:
wie Abb. 33
Peristaltische Einschnürungen sind erkennbar.

Abb. 35:
Wenn der Wurm die Sandoberfläche erreicht hat, dienen schlängelnde Bewegungen des Vorderkörpers der Verfestigung des Sandkanales, offensichtlich auch durch seine Auskleidung mit Schleim.

Abb. 36:
Der Wurm zieht sich aus dem vertikalen Teil seines Baues zurück.

Abb. 37:
wie Abb. 36

Abb. 38:
Der Rückzug erfolgt bis in den horizontalen Bereich des Baues. Am Wurmkörper sind deutlich Einschnürungen erkennbar. Es handelt sich um peristaltische Kontraktionswellen, die von vorne nach hinten über den Wurm laufen.

und zogen sich in den horizontalen Bereich ihres Baues zurück. Die Verfestigung des Sandes erfolgte offensichtlich auch durch eine Verschleimung. Der verfestigte Grabkanal stellt demnach eine offene Verbindung zum Oberflächenwasser dar. Er hat, wie sich herausstellen wird, eine Funktion für die Respiration der Tiere (s. 3.4.2.). Die Bildfolgen 33 - 35 und 36 - 38 zeigen das aufwärts grabende Tier, die Herstellung der Höhle und den Rückzug in den horizontalen Bereich des Baues.

Abb. 39 zeigt die einzelnen Phasen der geschilderten Bewegungsfolge, wie sie mit Hilfe des Druckaufnehmers aufgezeichnet wurden. Der Mechanismus der Grabbewegungen des *Sipunculus nudus* wurde bereits von Trueman und Foster-Smith (1976) ausführlich beschrieben. Die vorliegende Darstellung kann sich daher auf die unterschiedliche Bewegungscharakteristik im Verlauf der Aktivitätsphasen konzentrieren.

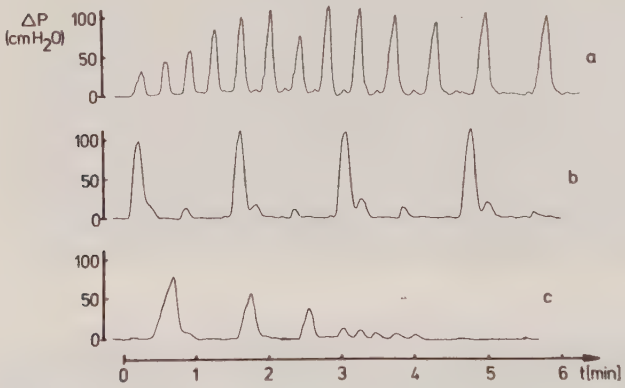


Abb. 39: Druckänderungen im Coelom (ΔP) während der Grabtätigkeit von Sipunculus nudus. Die Zeilen a-c stellen charakteristische Folgen von Druckschwankungen dar, die (a) an der Sandoberfläche, (b) im Sand, (c) bei der Herstellung der Atemhöhle auftreten (T = 15 °C).

Betrachtet man die Abb. 39, so fällt auf, daß sich die Struktur der Druckaufzeichnungen von den ersten Grabbewegungen bis zur Fertigstellung der kleinen Atemhöhle ändert. In der ersten Phase des Eingrabens (Zeile a) folgen die Grabbewegungen rasch aufeinander (3/min), der erzeugte Druck nimmt mit steigendem Widerstand des Substrates zu. Diese Phase hält an, solange

das Tier Kontakt mit dem Oberflächenwasser hat. Befindet es sich im Sand (Zeile b), wird der Abstand zwischen den Grabbewegungen (Hauptpeaks) größer (1,5/min), und kleine Nebenpeaks, die die Ankerbildung des Introvertes (Schulter am Hauptpeak) bzw. den raschen Rückzug des Introvertes (zwischen den Hauptpeaks) anzeigen, treten deutlich hervor. Die maximale Druckhöhe bleibt konstant bei ca. 110 cm H_2O. Wenn das Hindernis erreicht ist, nimmt der Druck mit den aufwärts gerichteten Bewegungen ab (Zeile c). Die letzten Druckschwankungen von geringer Druckhöhe (3 - 12 cm H_2O) und hoher Frequenz (4 - 5/min) sind charakteristisch für die Bewegungen, mit deren Hilfe die Tiere ihre Atemhöhle verfestigen.

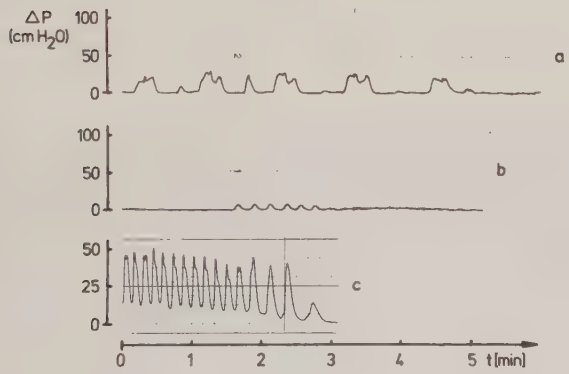


Abb. 40: Druckänderungen im Coelom (ΔP) von Sipunculus nudus bei Grabtätigkeit nach weitgehender Erschöpfung (a), bei Rückwärtsbewegungen im Sand (Näheres s. Text) (b) und bei ungerichteten Schwimmbewegungen (c) (T = 15 °C).

Eine andere Bewegungsfolge tritt auf, wenn die Tiere nach erschöpfendem Graben offensichtlich nicht mehr in der Lage sind, im Sand weiterzugraben und eine Atemhöhle herzustellen. Die letzten Grabbewegungen weitgehend erschöpfter Tiere sind von geringen Druckhöhen und großem Abstand gekennzeichnet (s. Abb. 40, Zeile a). Wenn die Tiere im Sand verschwunden sind, graben sie nicht weiter, bis sie sich am Vorderende eine Atemhöhle anlegen, sondern kehren ihre Bewegungsrichtung um und kommen rückwärts so weit aus dem Sand heraus, daß das glatte caudale Ende Kontakt mit dem Oberflächenwasser hat. Diese Rückwartsbe-

wegung ist durch Druckschwankungen charakterisiert, die eine Amplitude von 6 - 7 cm H_2O erreichen (s. Abb. 40, Zeile b). Sie sind wahrscheinlich auf eine intensive Rückwärtsperistaltik zurückzuführen.

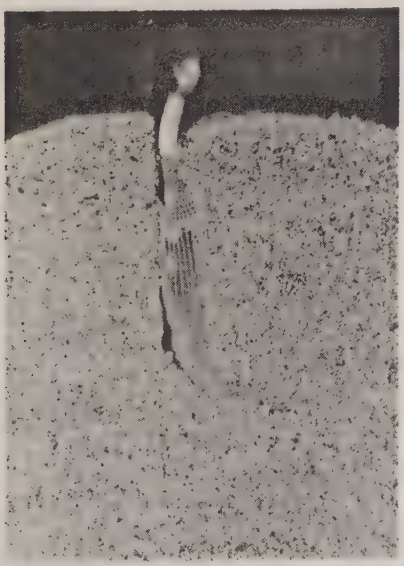
Abb. 40 (Zeile c) zeigt weiterhin die Aufzeichnung von ungerichteten Schwimmbewegungen, die hin und wieder spontan bei Tieren auftreten, welche sich im freien Wasser befinden. Hierbei ist der Introvert teilweise ausgefahren, die Ringmuskulatur ist kontrahiert, und die Längsmuskeln der dorsalen und ventralen Seite kontrahieren und erschlaffen abwechselnd, so daß eine schlagende Schwimmbewegung resultiert (vergl. von Uexküll, 1903).

3.4.2. Erholungs- und Ruhephasen im Sand

Nach der Fertigstellung einer Atemhöhle zieht sich das Tier wie beschrieben in den horizontalen Bereich seines Baues zurück. Während des Rückzuges und vielleicht auch schon während der Fertigstellung der Atemhöhle (s. Abb. 34) setzt, wie aus den Abbildungen 41 und 42 ersichtlich wird, eine Peristaltik ein, die vom Vorderende über das Tier nach hinten läuft. Bei größerer Verstärkung läßt sich diese Peristaltik auch mit Hilfe des Druckaufnehmers aufzeichnen (s. Abb. 45, Zeile a, Δ P). Es treten dabei Druckschwankungen im Bereich von ca. 1 cm H_2O auf. Die Peristaltik ist auch mit ausgefahrenen Tentakeln (s. Abb. 43) nachweisbar. Allerdings werden die Tentakeln während der Ruheperiode im Sand nur selten entfaltet. Dies kann an der Sandoberfläche oder in der Atemhöhle geschehen (s. Abb. 43 und 44). Eine Nahrungsaufnahme (Aufnahme von Sand), die mit Hilfe der Tentakeln erfolgt, konnte während der Ruhephasen im Experiment nicht beobachtet werden. Allerdings werden die Tentakeln oft während des Grabens nach dem Vorstoß des Introvertes in das Sediment ausgefahren, so daß übereinstimmend mit Hyman (1959) vermutet werden kann, daß die Aufnahme von Sand während der Grabtätigkeit erfolgt. Damit kann der Bau des *Sipunculus nudus* nur einen provisorischen Charakter haben.

Durch Beobachtungen am Tier lassen sich die Druckschwankungen mit den peristaltischen Bewegungen korrelieren (s. Abb. 41 und 42)

Abb. 41, 42:
Die von vorne nach hinten laufenden, peristaltischen Kontraktionswellen sind mit einem rhythmischen Wechsel von Dilatation (Abb. 41) und Verengung (Abb. 42) des Vorderendes von Sipunculus nudus verbunden, hier gut sichtbar während des Rückzuges in den horizontalen Bereich des Baues.



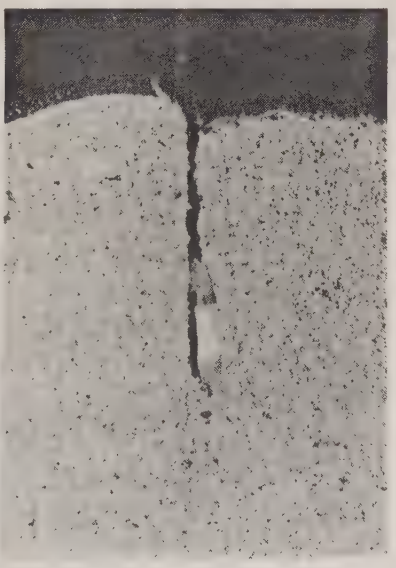


Abb. 43, 44:
Die Tentakeln werden vom Tier nach der Fertigstellung des Baues nur selten ausgefahren. Dies kann z.B. unmittelbar nach der Verfestigung des vertikalen Grabkanales erfolgen (Abb. 43) oder nach dem Rückzug aus diesem Teil des Baues (Abb. 44).

Druckabfall entspricht der Dilatation des Vorderendes und seiner Auffüllung mit Coelomflüssigkeit (s. Abb. 41). Der anschließend einsetzende Druckanstieg ist eine Folge der vorne beginnenden Verengung des Körpers (s. Abb. 42). Die Kontraktionswelle läuft nach hinten, wodurch der Vorderkörper wieder erschlaffen kann (Druckabfall, s. Abb. 41).

Die Frequenz der peristaltischen Kontraktionswellen ist bei großen und kleinen Tieren unterschiedlich (Gewichtsverhältnisse s. 2.1.,S.20 ,bzw.Tab. 16). Große Tiere zeigen eine Frequenz von 0,029 ± 0,008 Hz (n = 19), kleine Tiere dagegen eine Frequenz von 0,049 ± 0,013 Hz (n = 7). Diese Frequenzen wurden in Ruhephasen, frühestens 90 min nach Fertigstellung der Atemhöhle gemessen. Tab. 15 zeigt für 2 große Tiere, daß die Frequenz der peristaltischen Wellen nach der Fertigstellung der Atemhöhle zunächst erhöht ist und nach 60 min in die Nähe der angegebenen Ruhewerte absinkt.

Tab. 15: Frequenz der Atemperistaltik (in Hz) nach verschiedenen Zeiten der Erholung von einer einmaligen Grabtätigkeit mit Fertigstellung einer Atemhöhle, dargestellt am Beispiel von 2 großen Tieren (T = 15° C; /: nicht gemessen).

Zeit (min)	3'	30'	60'	180'	200'	300'
Tier 1	0,056	0,030	0,031	0,022	0,033	0,018
Tier 2	0,063	0,064	0,051	0,046	0,043	/

Die Vermutung liegt nahe, daß die Peristaltik respiratorische Funktion hat. Sie könnte also dazu dienen, sauerstoffhaltiges Atemmedium an die Tiere heranzuführen. Abb. 45 zeigt den experimentellen Nachweis einer Korrelation zwischen Peristaltik und Wasserströmung (Zeile a) sowie eines gerichteten Wassereinstroms in die Atemhöhle (Zeile b). Mit Hilfe eines Einzelthermistors konnte nachgewiesen werden, daß die Frequenz der Peristaltik (Δ P) und die Frequenz der Strömungsschwankungen (Δ T) übereinstimmen (Zeile a). Zeile b zeigt die Nullinie und die Wasserströmung als Abweichung nach einer Seite. Dies wurde mit Hilfe einer Kombination von 3 Thermistoren erarbeitet (s. 2.4.3., S.53).Auch hier sind rhythmische Strömungsschwankungen

zu verzeichnen. Der Nachweis, daß der Wasserstrom einwärts gerichtet ist, wurde experimentell dadurch geführt, daß mit einer peristaltischen Pumpe Wasser in beide Richtungen durch die Versuchsapparatur gepumpt und die Richtung der Auslenkung mit der Aufzeichnung verglichen wurde, die sich über der Atemhöhle ergab.

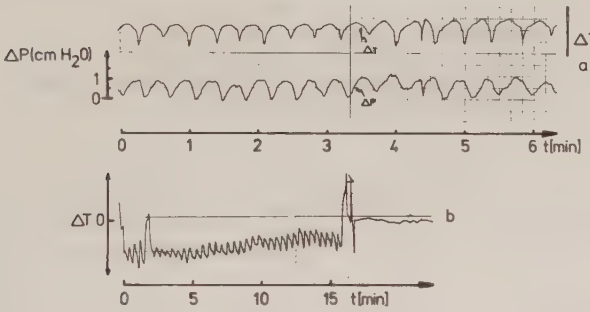


Abb. 45:
Respiratorische Wasserbewegungen in der Atemhöhle des Sipunculus nudus.
a: Strömungsschwankungen (ΔT) und peristaltische Kontraktionen des Hautmuskelschlauches (ΔP) zeigen eine deutliche Korrelation. b: Die Wasserströmung ist gerichtet, da die Aufzeichnung ausgehend von der Nullinie (rechts) nur nach einer Seite abweicht (s. Text). (T = 15° C).

Für die Bestimmung des Wasservolumens, das von den Tieren bewegt wird, wurde ein Flowmeterkopf verwandt. Tab. 16 zeigt eine Zusammenstellung der Daten, die für kleine und große Tiere erarbeitet wurde, welche sich wie oben in Ruhe in ihrem Bau befanden. Das einströmende Wasservolumen betrug bei großen Tieren mit 3,03 ± 0,82 ml/min etwa das Dreifache von dem Volumen (1,0 ± 0,33 ml/min), welches von kleinen Tieren in die Atemhöhle gezogen wurde. Der Unterschied hebt sich jedoch nahezu auf, wenn man die Flußrate auf das Körpergewicht bezieht. Große Tiere pumpten 6,10 ± 1,80 ml/g x h, kleine Tiere mit 7,31 ± 2,40 ml/g x h etwas mehr. Geht man davon aus, daß das Druck x Zeit-Integral der von den Tieren geleisteten Arbeit und der durchschnittlich aufrechterhaltene Druck der erbrachten „Leistung" direkt proportional ist (Begründung s. 4.1.2., S.255f), so war die „Leistung", die die kleinen Tiere für die Wasserbewegung zu erbringen hatten, mit 0,53 ± 0,13 cm H_2O größer als die „Leistung" der großen Tiere mit 0,27 ± 0 cm H_2O. Die Diskrepanz

zeigt sich noch deutlicher, wenn man die „Leistung" auf das Körpergewicht bezieht. Hier ergibt sich für die spezifische „Leistung" kleiner Tiere mit 0,082 ± 0,019 cm H_2O/g ein Wert, der fast um das Zehnfache höher liegt als bei den großen Tieren mit 0,0089 ± 0 cm H_2O/g. Dementsprechend wiesen die untersuchten kleinen Tiere mit 0,051 ± 0,013 Hz eine höhere Atemfrequenz als die großen Tiere mit 0,033 ± 0,006 Hz auf.

Tab. 16: Gegenüberstellung von Körpergewicht, Wasserflüssen in die Atemhöhle, „Leistung" und Atemfrequenz. Die Daten wurden an Tieren erarbeitet, die sich in Ruhe in ihrem Bau befanden; $\bar{x}$ ± SD, n = 4 (große Tiere) bzw. n = 6 (kleine Tiere), T = 15° C

Körpergewicht (g)	Fluß (ml/min)	spezifischer Fluß (ml/g x h)	„Leistung" (cm H_2O)	spezifische „Leistung" (cm H_2O/g)	Frequenz (Hz)
29,80 ± 0,85	3,03 ± 0,82	6,10 ± 1,80	0,27 ± 0	0,0089 ± 0	0,033 ± 0,006
8,21 ± 1,77	1,0 ± 0,33	7,31 ± 2,40	0,53 ± 0,13	0,082 ± 0,019	0,051 ± 0,013

Die Charakterisierung des Verhaltens der Tiere im Sand, wie sie in diesem Kapitel vorgenommen wurde, erlaubt, ihr Verhalten in experimentell simulierten Situationen besser zu verfolgen, zumal in den betreffenden Experimenten nur mit Hilfe der Druckaufnehmer festgestellt werden konnte, ob und wie die Tiere aktiv waren oder ob sie sich im Ruhezustand befanden. Eine visuelle Beobachtung im Sand war unter den gegebenen Bedingungen ausgeschlossen.

3.5. Stoffwechsel und O_2-Versorgung unter simulierten natürlichen Bedingungen

Bei der Durchführung weiterer Experimente wurden die natürlichen Verhältnisse im Biotop berücksichtigt. Die Tiere wurden im Sand belassen und unnatürliche Eingriffe im Verlauf der Versuche vermieden. Durch die Verwendung von Kathetern konnten auch von versteckt im Sand liegenden Tieren Bewegungen aufgezeichnet und Coelomflüssigkeitsproben entnommen werden, ohne die Tiere zu stören.

Mit Hilfe von Druckaufzeichnungen, Flußmessungen und P_{O_2}-Messungen im Coelom konnte die Atemtätigkeit ruhender Tiere im Sand analysiert werden (s. unten, 3.5.a). Weiterhin wurde auf der Grundlage der unter 3.4. geschilderten Ergebnisse für folgende Situationen angenommen, daß sie den natürlichen Bedingungen nahekommen und mit einer Anaerobiose verbunden sind (Begründung s. 4.2., S. 300 ff.):

1) einmaliges Eingraben mit Erholung im Sand (mit Atemhöhle)
2) erschöpfendes Graben mit Erholung im Sand (ohne Atemhöhle)

Diese beiden Situationen könnten einer natürlichen, funktionsbedingten Anaerobiose entsprechen.

3) Tiere im Sand bei Niedrigwasser (mit Atemhöhle)
4) Tiere im Sand bei extremer Hypoxie im Wasser (mit Atemhöhle)
5) Tiere verschüttet

Diese Situationen könnten einer biotopbedingten Anaerobiose entsprechen.

Das Ausmaß der Sauerstoffversorgung konnte in den genannten Situationen nicht quantitativ erfaßt werden. Da der P_{O_2} im Coelom vom äußeren P_{O_2} abhängig ist, lassen jedoch Änderungen des O_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit auf eine geänderte Sauerstoffversorgung schließen.

Mit Hilfe von P_{O_2}-Messungen im Coelom sollte weiterhin festgestellt werden, wieviel Sauerstoff das Gewebe bei Sauerstoffmangel der Coelomflüssigkeit entnimmt. Voraussetzung hierfür ist der Nachweis, daß die alleinige Messung von Änderungen des P_{O_2} eine quantitative Aussage über Veränderungen im O_2-Gehalt der Coelom-

flüssigkeit erlaubt (s. unten, 3.5.b).

Der Energiestoffwechsel der Muskulatur wurde an kleinen Tieren im Zusammenhang mit Änderungen des P_{O_2} im Coelom untersucht. Dabei wurden die Tiere zu verschiedenen Versuchszeiten aufgearbeitet. Die Experimente wurden mit großen Tieren wiederholt, um Gewißheit zu erlangen, daß die so im Versuchsverlauf gefundenen Veränderungen repräsentativ für die Vorgänge in jedem einzelnen Tier sind. Bei großen Tieren konnten während des gesamten Versuches Veränderungen in der Coelomflüssigkeit an jeweils demselben Tier verfolgt werden, da sie so viel Coelomflüssigkeit besitzen, daß wiederholte Probeentnahmen von bis zu 0,6 ml möglich sind.

Außer den Zusammenhängen zwischen Sauerstoffversorgung und Energiestoffwechsel in der Muskulatur wurden unter den genannten Bedingungen auch die Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt untersucht. Letztere werden ausführlich im Kapitel 3.7. behandelt.

a) O_2-Verbrauch unter Ruhebedingungen im Sand

Unter 3.2.1. wurde der O_2-Verbrauch frei im Wasser liegender Tiere beschrieben. Der O_2-Verbrauch im Sand lebender Tiere konnte folgendermaßen abgeschätzt werden:

Zunächst wurde angenommen, daß der P_{O_2} im Coelom ruhender Tiere eine annähernd konstante Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} zeigt, gleichgültig, ob sie sich im Wasser oder im Sand befinden (s. Abb. 27, S.114). Der coelomäre P_{O_2} im Sand ruhender Tiere wurde an katheterisierten Exemplaren bestimmt. Hier stellte sich heraus, daß der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit ruhender großer und kleiner Tiere im gleichen Sand unterschiedlich war. Der P_{O_2} im Coelom großer Tiere betrug 14,94 ± 6,09 Torr (n = 14), der P_{O_2} im Coelom kleiner Tiere dagegen 36,17 ± 6,75 Torr (n = 3).

Eine Voraussetzung für die Analyse des O_2-Verbrauches unter natürlichen Bedingungen bildet die Bestimmung der Wassermenge, die die Tiere in die Atemhöhle pumpen müssen, um die genannten P_{O_2}-Werte aufrechtzuerhalten. Dieses Wasservolumen wurde bereits in Tab. 16, S. 128, angegeben.

Für die Berechnung des Sauerstoffverbrauches im Sand wurde zunächst der P_{O_2} indirekt ermittelt, der nach Entnahme des Sauer-

stoffes aus dem einströmenden Wasser noch im Atemwasser vorliegt. Die betreffenden Werte lassen sich aus Abb. 27, S. 114, ablesen, wenn man die oben genannten Ruhewerte des P_{O_2} im Coelom verwendet. Der verbliebene P_{O_2} im Atemwasser betrug demnach bei großen Tieren 97 Torr, bei kleinen Tieren 94 Torr.

Durch den Sauerstoffverbrauch erniedrigte sich der P_{O_2} im Atemwasser großer Tiere gegenüber luftgesättigtem Wasser um ca. 61 Torr, im Atemwasser kleiner Tiere um ca. 64 Torr. Dem Atemwasser großer Tiere wurde also eine O_2-Menge von 2,18 ml/l, dem Atemwasser kleiner Tiere eine O_2-Menge von 2,27 ml/l entnommen. Der gemessene Wassereinstrom $\dot{V}_w$ betrug bei großen Tieren 3,03 ± 0,82 ml/min bzw. 6,10 ml/g x h, bei kleinen Tieren 1,0 ± 0,33 ml/min bzw. 7,31 ml/g x h. Unter Berücksichtigung der Abnahme der Sauerstoffkonzentration im Atemwasser ergab sich damit für große Tiere ein O_2-Verbrauch von 13,30 µl/g x h (bzw. 594 nmol/g x h bei 15° C) und für kleine Tiere ein O_2 Verbrauch von 16,59 µl/g x h (bzw. 741 nmol/g x h).

Im Respirometerversuch verbrauchten große Tiere bei P_{O_2} = 97 Torr 11,9 µl O_2/g x h und kleine Tiere bei 94 Torr 11,6 µl O_2/g x h. Der O_2-Verbrauch großer Tiere lag im Sand mit 13,30 µl/g x h also um 1,40 µl/g x h höher als im freien Wasser. Kleine Tiere verbrauchten dagegen im Sand mit 16,59 µl/g x h 5,0 µl/g x h mehr als im freien Wasser. Die ausgeprägtere Steigerung des O_2-Verbrauches kleiner Tiere korreliert mit der Tatsache, daß die „Leistung" der kleinen Tiere während der Respiration in cm H_2O/g mit 0,082 größer war als die großer Tiere mit 0,0089 cm H_2O/g (s. Tab. 16, S. 128). Die für die Berechnung des O_2-Verbrauches im Sand wichtigen Daten sind in Tab. 17 zusammengestellt.

Tab. 17: Berechnung des O_2-Verbrauches im Sand unter Ruhebedingungen; $\dot{V}_w$: Wasserfluß; $\dot{V}_{O_2}$: Sauerstoffverbrauch im Sand bzw. im freien Wasser (T = 15° C).

Tiere	Coelom P_{O_2} (Torr)	Atemwasser P_{O_2} (Torr)	entnommene O_2-Menge (ml/l)	$\dot{V}_w$ (ml/gxh)	$\dot{V}_{O_2}$ Sand (µl/gxh)	$\dot{V}_{O_2}$ Wasser (µl/gxh)	spezifische „Leistung" (cmH_2O/g)
groß	14,94	97	2,18	6,10	13,30	11,9	0,0089
klein	36,17	94	2,27	7,31	16,59	11,6	0,082

Im feinen Sand aus Morgat wurden für die kleinen Tiere Ruhewerte des P_{O_2} gefunden, die niedriger als der in Tab. 17 angegebene Wert lagen (s. 3.5.f, S. 147). In diesem Sand wurde der Wassereinstrom in die Atemhöhle jedoch nicht gemessen.

b) Untersuchungen zur Kinetik der Sauerstoffbindung an das Haemerythrin

Die alleinige Messung von Änderungen des P_{O_2} erlaubt dann eine quantitative Aussage über Veränderungen im O_2-Gehalt der Coelomflüssigkeit, wenn die prozentuale Sättigung des Haemerythrins schnell genug den Änderungen des P_{O_2} im Coelom folgt. Für langfristige Änderungen des P_{O_2} konnte dies schon anhand der *in vivo* erstellten Bindungskurve bestätigt werden (s. Abb. 22, S. 110). Eine Bestätigung für relativ schnelle Änderungen des P_{O_2} im Coelom stand jedoch noch aus. Drei Tieren wurden deshalb nach verschiedenen Zeiten der Grabtätigkeit Coelomflüssigkeitsproben entnommen und der O_2-Partialdruck sowie der O_2-Gehalt in der Coelomflüssigkeit bestimmt. Die in Abb. 46 zusammen aufgetragenen Ergebnisse zeigen, daß im Verlauf des Eingrabens mit der Abnahme des P_{O_2} auch eine Abnahme der prozentualen Sättigung des Haemerythrins entsprechend der Sauerstoffbindungskurve einherging. Damit ist es möglich, den Sauerstoffverbrauch des Gewebes aus der Coelomflüssigkeit unter Berücksichtigung der Gewichtsverhältnisse zu berechnen. Der Eigenverbrauch der Coelomflüssigkeit kann dabei in der Regel vernachlässigt werden, da er im lebenden Tier nur 7,6 % des O_2-Verbrauches im Gewebe entspricht (s. S. 239).

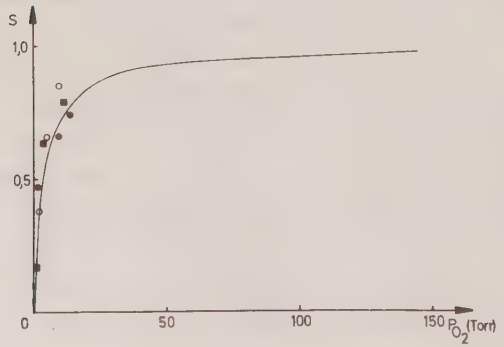


Abb. 46:
Beziehung zwischen der Sättigung S des Haemerythrins und dem P_{O_2} im Coelom nach verschiedenen Zeiten der Grabtätigkeit. Die Meßwerte (jedes Symbol repräsentiert ein individuelles Tier) liegen nahe der tonometrisch erstellten O_2-Bindungskurve (s. Abb. 22, S. 110) (T = 15° C).

Der Sauerstoffverbrauch des Gewebes ergibt sich nach:

$\dot{V}_{O_2} = \Delta c_{O_2} \times 1{,}08 \times t^{-1}$ (µl/g x h)

c_{O_2} : O_2-Konzentration (ml/l Coelomflüssigkeit)

t : Zeiteinheit (h)

1,08: Umrechnungsfaktor: Sauerstoffverbrauch aus der Coelomflüssigkeit (µl/ml x h) in Sauerstoffverbrauch des Gewebes (µl/g x h)

Nachdem diese methodischen Voraussetzungen erfüllt waren, konnten die Untersuchungen des Stoffwechsels und der Physiologie der Tiere in den auf S. 129 beschriebenen Situationen in Angriff genommen werden.

c) Situation 1: einmaliges Eingraben mit Erholung im Sand

Dieser Versuch wurde mit kleinen und mit großen Tieren durchgeführt. An den kleinen Tieren wurde der Energiestoffwechsel im Zusammenhang mit Änderungen des O_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit untersucht. Dazu wurde nach der Entnahme der Coelomflüssigkeitsprobe die Muskulatur aufgearbeitet. An den großen Tieren wurde das Verhalten des P_{O_2} im Coelom während und nach der Grabtätigkeit verfolgt.

Nach einmaligem Eingraben gruben die Tiere stets unter der Sandoberfläche weiter und stellten sich schließlich eine Atemhöhle her (s. Abb. 35, S. 120). Während der folgenden Stunden der Erholung trat keine Grabtätigkeit mehr auf.

Das Druck x Zeit-Integral wurde als Maß für die vom Tier erbrachte Arbeit betrachtet und der vom Tier während des Grabens aufrechterhaltene durchschnittliche Druck als Maß für die Leistung (Begründung s. 4.1.2., S. 255f). Die von den kleinen Tieren bis zur Fertigstellung der Atemhöhle geleistete Arbeit war unterschiedlich. Im Durchschnitt ergab sich für das Druck x Zeit-Integral ein Wert von 648 ± 332 cm H_2O x min, für die Grabzeit ein Wert von 51,4 ± 19,6 min und für den durchschnittlichen Druck, also die „Leistung" ein Wert von 12,6 ± 3,3 cm H_2O (n = 17, s. Tab. 18). Die großen Tiere benötigten 71,7 ± 10,1 min bei einem durchschnittlichen Druck von 12,5 ± 2,3 cm

Tab. 18: Veränderungen im Energiestoffwechsel sowie Veränderungen des P_{O_2} im Coelom bei einmaliger Grabtätigkeit mit Bau einer Atemhöhle und während der anschließenden Erholung im Sand, Konzentrationen in der Muskulatur in µmol/g FG. Für jede Gruppe von Tieren ist das Ausmaß der „Arbeit", die Höhe der „Leistung" und die Grabzeit bis zur Fertigstellung der Atemhöhle angegeben ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Bedingung	„Arbeit" (cm H_2O x min)	„Leistung" (cm H_2O)	Grabzeit (min)	Coelom (Torr)	Octopin	Succinat	Phospho-L-Arginin	L-Arginin	[PLA]/[L-Arg]	Summe der Adenylate	Energieinhalt (E.ch.)
Ruhe (n = 3)	-	-	-	36,17 ± 6,75	0,10 ± 0,05	0,07 ± 0,04	52,09 ± 3,10	7,03 ± 0,85	7,47 ± 0,85	3,76 ± 0,06	0,93 ± 0,01
Höhle fertig (n = 5)	482 ± 124	10,6 ± 1,9	45,6 ± 9,1	1,34 ± 0,94	0,59 ± 0,29	0,13 ± 0,07	44,96 ± 3,13	4,54 ± 1,95	4,87 ± 1,09	3,50 ± 0,32	0,92 ± 0,01
Erholung 1 h (n = 3)	64,1 ± 111	10,6 ± 1,2	60,5 ± 3,5	5,0 ± 6,36	0,86 ± 0,09	0,10 ± 0,03	44,38 ± 4,49	10,70 ± 0,11	4,15 ± 0,46	3,78 ± 0,16	0,93 ± 0
2 h (n = 3)	969 ± 245	15,8 ± 7,1	64,5 ± 13,4	8,0 ± 8,49	0,58 ± 0,13	0,06 ± 0,01	48,09 ± 5,55	8,68 ± 2,02	5,77 ± 1,98	3,62 ± 0,37	0,93 ± 0,01
4 h (n = 3)	1008 ± 589	14,5 ± 1,4	68,0 ± 34,0	14,5 ± 3,54	0,52 ± 0,15	0,06 ± 0,01	48,42 ± 4,65	6,40 ± 0,25	7,59 ± 1,03	4,41 ± 0,47	0,94 ± 0
6 h (n = 3)	387 ± 320	14,5 ± 0,3	27,0 ± 22,6	36,25 ± 9,55	0,08 ± 0,04	0,05 ± 0,01	52,78 ± 4,04	6,65 ± 0,75	7,95 ± 0,29	3,74 ± 0,07	0,93 ± 0,01
Gesamt (n = 17)	648 ± 332	12,6 ± 3,3	51,4 ± 19,6								

H_2O und zeigten damit einen Gesamtaufwand von 885 ± 147 cm H_2O x min (n = 3).

In Abb. 47 sind die Veränderungen des P_{O_2} im Coelom der großen und der kleinen Tiere dargestellt. In beiden Fällen nahm der P_{O_2} ausgehend von den bereits besprochenen unterschiedlichen Ruhewerten während der Grabtätigkeit ab und stieg nach der Fertigstellung der Atemhöhle bis in die Nähe des Ruhewertes an.

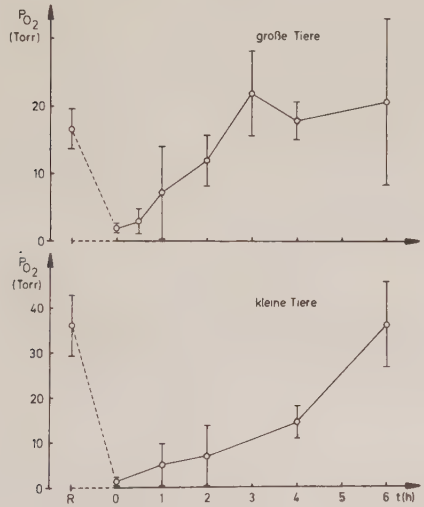


Abb. 47:
Veränderungen des P_{O_2} im Coelom großer und kleiner Tiere nach einmaligem Eingraben (mit Herstellung der Atemhöhle) und nach verschiedenen Zeiten der Erholung im Sand. R: Ruhewert nach 24h aerober Hälterung im Sand; 0h: Zeitpunkt der Fertigstellung der Atemhöhle, Beginn der Erholung (Zeitpunkt 0, kleine Tiere: n = 5, sonst n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Bei den großen Tieren fiel der P_{O_2} beim Graben von 16,67 ± 2,93 auf 1,9 ± 0,66 Torr, bei den kleinen Tieren von 36,17 ± 6,75 auf 1,34 ± 0,94 Torr. Wenn man die unter 3.3.1., S. 109f., genannten Hämatokritwerte und O_2-Bindungskapazitäten berücksichtigt, entspricht dies bei den großen einer Abnahme des O_2-Gehaltes um 1,03 Vol% oder einem O_2-Verbrauch des Gewebes aus der Coelomflüssigkeit von 9,33 µl/g x h (bzw. 416 nmol/g x h bei einem Zeitaufwand von 71,7 ± 10,1 min bis zur Fertigstellung der Höhle, n = 3). Das Gewebe der kleinen Tiere verbrauchte aus der Coelomflüssigkeit 0,81 Vol% Sauerstoff bzw. 11,56 µl/g x h (516 nmol/g x h, 45,6 ± 9,1 min bis zur Fertigstellung der Höhle, n = 5).

Während der anschließenden Erholung war der Ruhewert im Coelom großer Tiere nach 3 h wieder erreicht bzw. mit 22,0 ± 6,36 Torr bereits überschritten. In den folgenden drei Stunden der Erholung trat keine wesentliche Änderung des P_{O_2} mehr auf. Die kleinen Tiere benötigten für die Auffüllung des O_2-Gehaltes in der Coelomflüssigkeit ca. 6 h. Der P_{O_2} lag nach dieser Zeit mit 36,25 ± 9,55 Torr in der Nähe des Ruhewertes.

Abb. 48 zeigt die Konzentrationsänderungen von Octopin und Succinat sowie die Änderungen des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin im Hautmuskelschlauch. Der Energieinhalt wies im Verlauf dieses Experimentes keine wesentliche Abnahme auf (s. Tab. 18). Eine Ausscheidung von Octopin in die Coelomflüssigkeit konnte nicht festgestellt werden. Während des gesamten Versuches blieb die Octopinkonzentration hier unterhalb von 0,02 µmol/ml Plasma.

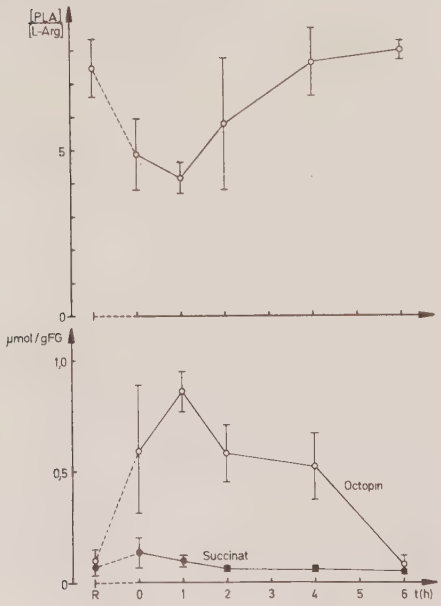


Abb. 48:
Veränderungen des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (oben) sowie der Konzentrationen von Octopin und Succinat (unten) im Hautmuskelschlauch kleiner Tiere nach einmaligem Eingraben (mit Herstellung der Atemhöhle) und nach verschiedenen Zeiten der Erholung im Sand (R, Oh: s. Abb. 47) (Zeitpunkt 0: n = 5, sonst n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

In der Muskulatur (Hautmuskelschlauch mit Retraktoren) stieg der Octopingehalt dagegen während der Grabtätigkeit von 0,10 ± 0,05 auf 0,59 ± 0,29 µmol/g FG an. Betrachtet man das weitere Verhalten des Octopingehaltes während der Erholung, so scheint es, als ob Octopin in der ersten Stunde der Erholung weiter angehäuft und erst dann abgebaut wurde. Tab. 18 gibt jedoch Auskunft darüber, daß die nach 1 h Erholung und später aufgearbeiteten Tiere bis zur Fertigstellung der Atemhöhle eine höhere Leistung vollbracht hatten als die direkt nach Beendigung der Grabtätigkeit aufgearbeiteten Tiere. Dies ist bei der Betrachtung des Octopinabbaus zu berücksichtigen und erklärt vielleicht den vorübergehenden, außerdem auch nicht signifikanten Konzentrationsanstieg auf 0,86 ± 0,09 µmol/g Octopin während 1 h Erholung. Eine eindeutige Abnahme der Octopinkonzentration auf einen Wert unterhalb von 0,59 µmol/g FG (s.o.) fand erst nach 4 h Erholung statt. Nach 6 h Erholung lag der Octopingehalt mit 0,08 ± 0,04 µmol/g FG wieder in der Nähe der Ausgangskonzentration.

Der Succinatgehalt zeigte bis zur Fertigstellung der Atemhöhle eine geringfügige Zunahme von 0,07 ± 0,04 auf 0,13 ± 0,07 µmol/g FG. Dieser Anstieg wurde während 2 h Erholung wieder rückgängig gemacht.

Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin fiel während des Grabens von 7,43 ± 0,86 auf 4,87 ± 1,09. Die weitere, nicht signifikante Abnahme während 1 h Erholung ist ebenfalls im Zusammenhang mit der von den Tieren erbrachten Leistung zu sehen (s.o.). Nach 4 h Erholung war der Ausgangswert mit 7,59 ± 1,03 wieder erreicht, und nach 6 h wurde ein Wert von 7,95 ± 0,29 gefunden.

Insgesamt setzte die Erholung von einmaliger Grabtätigkeit im Energiestoffwechsel spätestens 1 h nach Fertigstellung der Atemhöhle ein. Der P_{O_2} im Coelom stieg unmittelbar nach Beendigung des Grabens an, nach 1 h gefolgt von der Resynthese des Phosphagens und nach 4 h vom Abbau des Octopins. Der Octopinabbau fand also in der letzten Phase der Erholung im Anschluß an die Resynthese des Phosphagens statt.

d) Situation 2: erschöpfendes Graben mit Erholung im Sand

In diesem Versuch wurden die Tiere veranlaßt, bis nahe zur Erschöpfung zu graben. Nach maximal 10 Grabzyklen wurden die Tiere im Sand belassen. Ein Grabzyklus dauerte von der ersten Eingrabbewegung bis zum Verschwinden im Sand; durch Ausgraben des Tieres wurde anschließend der nächste Zyklus eingeleitet. In der Regel gruben sich die Tiere beim letzten Zyklus nur soweit ein, daß gerade noch ihr caudales Ende zu sehen war. Sie behielten diese Position im Verlauf der Erholung bei (s. 3.4.1., S. 123). Die O_2-Versorgung wurde durch peristaltische Kontraktionswellen gesichert, die von caudal zum Vorderende der Tiere liefen.

Dieser Versuch konnte mit großen Tieren nicht bis zur vollständigen Erholung durchgeführt werden, da die Tiere unter den geschilderten Bedingungen keine Bereitschaft zeigten, sich im Sand zu erholen. Sie kamen dagegen in den ersten Erholungsstunden mit Hilfe der Rückwärtsperistaltik aus dem Sand und blieben an der Sandoberfläche liegen. Der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit großer Tiere ist daher in Abb. 49 nur bis zu 2,5 h Erholung eingezeichnet. Er fiel während der Grabtätigkeit ausgehend von 16,49 ± 3,31 Torr auf 2,33 ± 0,58 Torr ab. Im Sand erfolgte in der ersten Stunde danach eine weitere Abnahme auf 0,5 ± 0 Torr. Nach 2,5 h Erholung wurde ein Wert von 1,0 ± 1,73 Torr erreicht.

Diese Ergebnisse bestätigten sich bei den Untersuchungen an kleinen Tieren. Hier fiel der P_{O_2} während der Grabtätigkeit von 36,17 ± 6,75 Torr auf 9,67 ± 4,16 Torr, um in der ersten Stunde der Erholung weiter bis auf 3,33 ± 1,26 Torr abzunehmen. Es folgte eine Phase des geringfügigen P_{O_2}-Anstiegs auf 7,67 ± 7,25 Torr nach 2 h und auf 12,17 ± 6,93 Torr nach 6 h. Wie aus der großen Streuung der P_{O_2}-Werte zu entnehmen ist, unterschieden sich die Tiere im zeitlichen Verlauf der Erholung relativ stark. Erst nach 6 h Erholung stieg der P_{O_2} deutlich an, bis nach 8 h mit 27,17 ± 10,0 Torr ein Wert in der Nähe des Ruhewertes erreicht war.

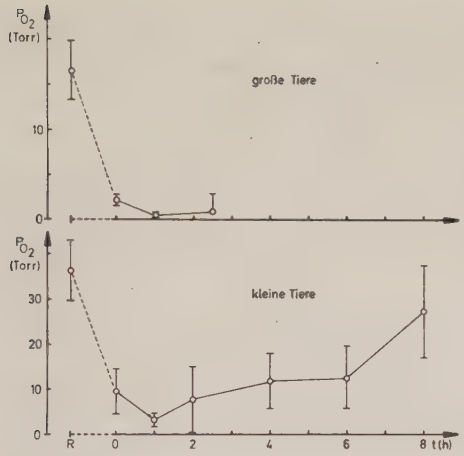


Abb. 49:
Veränderungen des P_{O_2} im Coelom großer und kleiner Tiere nach erschöpfendem Graben und nach verschiedenen Zeiten der Erholung im Sand (ohne Atemhöhle). R: Ruhewert nach 24 h aerober Hälterung im Sand; Oh: Ende der Grabtätigkeit, Beginn der Erholung (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Während der Grabtätigkeit nahm der Sauerstoffgehalt in der Coelomflüssigkeit der großen Tiere um 0,82 Vol% ab. Bei einer Grabzeit von 91,15 ± 12,39 min entsprach dies einem durchschnittlichen Sauerstoffverbrauch des Gewebes aus der Coelomflüssigkeit von 5,83 µl/g x h bzw. 260 nmol/g x h. Während der ersten Stunde nach Beendigung des Grabens fiel der P_{O_2} weiter ab (s.o.), entsprechend einer Abnahme des O_2-Gehaltes um weitere 0,75 Vol%. Der Sauerstoffverbrauch des Gewebes aus der Coelomflüssigkeit betrug in dieser Zeit 8,08 µl/g x h oder 361 nmol/g x h.

Die kleinen Tiere verbrauchten während des Grabens mit 0,28 Vol% weniger Sauerstoff aus der Coelomflüssigkeit als die großen Tiere. Der Sauerstoffverbrauch des Gewebes betrug bei einer Grabzeit von 67,33 ± 9,87 min 2,74 µl/g x h bzw. 122 nmol/g x h. In der ersten Stunde nach Grabende lag der O_2-Verbrauch aus dem Coelom bei 3,10 µl/g x h oder 139 nmol/g x h und führte zu einer Abnahme des O_2-Gehaltes um weitere 0,29 Vol%.

Die in Abb. 50 aufgetragenen Änderungen der Octopin- und Succinatkonzentration sowie des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin in der Muskulatur kleiner Tiere sind wieder im Zusammenhang mit der von den Tieren in unterschiedlichem Ausmaß geleisteten Arbeit zu sehen. Im Durchschnitt betrug die in 8,2 ± 1,7 Grabzyklen von den kleinen

Tieren geleistete Arbeit 933 ± 293 cm H_2O x min bei einem Durchschnittsdruck (=„Leistung") von 14,8 ± 3,7 cm H_2O und einer Grabzeit von 64,6 ± 20,7 min (n = 18, s. Tab. 19).

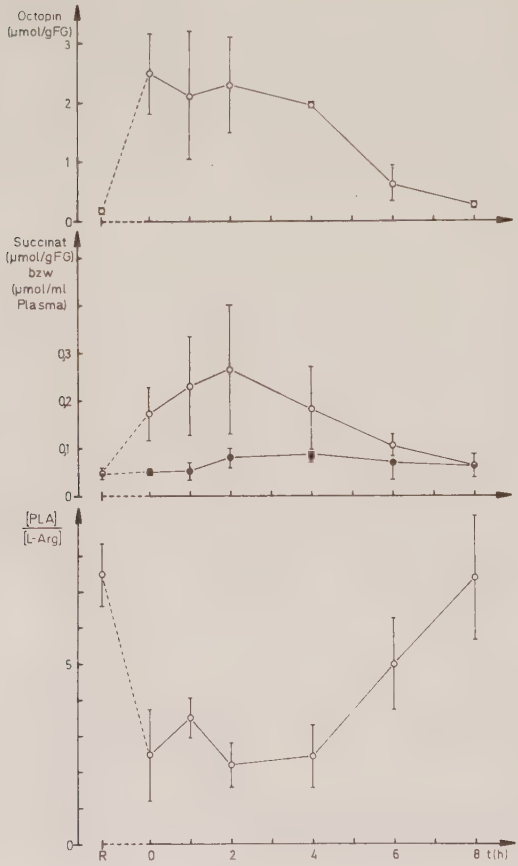


Abb. 50:
Veränderungen der Konzentrationen von Octopin (oben), Succinat (Mitte) sowie des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (unten) im Hautmuskelschlauch (o - o) bzw. Coelomplasma (nur Succinat ● - ●) kleiner Tiere nach erschöpfendem Graben und nach verschiedenen Zeiten der Erholung im Sand (ohne Atemhöhle) (R, Oh: s. Abb. 49) (n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Der Octopingehalt in der Muskulatur (Hautmuskelschlauch mit Retraktoren) nahm während des Grabens von 0,09 ± 0,04 µmol/g FG auf 2,45 ± 0,61 µmol/g FG zu und zeigte in den ersten 2 h der Erholung kaum eine Änderung (s. Abb. 50). Während der nächsten beiden Stunden fiel er dann langsam auf 1,95 ± 0,04 µmol/g

FG ab. Erst von der vierten bis zur sechsten Stunde der Erholung fand eine deutliche Konzentrationsabnahme bis auf 0,63 ± 0,29 µmol/g FG statt. Nach 8 h war mit 0,18 ± 0,01 µmol/g FG ein Wert in der Nähe des Ruhewertes erreicht.

Während des gesamten Versuches lag die Octopinkonzentration in der Coelomflüssigkeit unter 0,01 µmol/ml Plasma. Octopin wurde also auch hier nicht in die Coelomflüssigkeit ausgeschieden.

Der Succinatgehalt in der Muskulatur nahm während der Grabtätigkeit nur geringfügig von 0,05 ± 0,01 µmol/g FG auf 0,17 ± 0,06 µmol/g FG zu (Abb. 50). Dieser Anstieg setzte sich bei starker Streuung der Werte scheinbar noch in den ersten 2 h der Erholung bis auf 0,27 ± 0,14 µmol/g FG fort. Anschließend fiel die Succinatkonzentration wieder kontinuierlich ab, bis nach 8 h ein Wert von 0,06 ± 0,02 µmol/g FG erreicht wurde.

Innerhalb der ersten Stunde der Erholung zeigte sich mit der Zunahme des Succinatgehaltes im Gewebe auch ein leichter Anstieg der Succinatkonzentration im Coelomplasma von 0,05 ± 0,02 auf 0,08 ± 0,02 µmol/ml Plasma. Auch nach 4 h Erholung lag die Konzentration noch bei 0,08 ± 0,01 µmol/ml Plasma, wurde dann aber in den nächsten beiden Stunden bis auf 0,06 ± 0,02 µmol/ml Plasma reduziert.

Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin fiel während der Grabtätigkeit von 7,47 ± 0,86 auf 2,79 ± 1,21 und blieb mit Ausnahme des nach 1 h Erholung gefundenen, demgegenüber erhöhten Wertes von 3,48 ± 0,55 bis 4 h Erholung relativ konstant (s. Abb. 50). Erst in der Zeit zwischen 4 und 8 h Erholung fand ein kontinuierlicher Anstieg des Quotienten von 2,42 ± 0,86 auf 7,39 ± 1,72 statt.

Der Energieinhalt war von der intensiven Grabtätigkeit etwas stärker betroffen als von der einmaligen Grabtätigkeit (s. 3.5. c). Er nahm von 0,93 ± 0,01 bis auf 0,88 ± 0,04 ab. Nach 1 h Erholung lag er jedoch bereits wieder bei 0,91 0,01 und nach 2 h Erholung bei 0,93 ± 0.

Den Ergebnissen zufolge setzte die Erholung von der intensiven

Tab. 19: Veränderungen im Energiestoffwechsel sowie Veränderungen des P_{O_2} im Coelom bei erschöpfender Grabtätigkeit und während der anschließenden Erholung im Sand, Konzentrationen in der Muskulatur in µmol/g FG. Für jede Gruppe von Tieren ist das Ausmaß der „Arbeit", die Höhe der „Leistung" und die Grabzeit angegeben (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Bedingung	„Arbeit" (cmH_2O x min)	„Leistung" (cmH_2O)	Grabzeit (min)	P_{O_2} Coelom (Torr)	Octopin	Succinat	Phospho-L-Arginin	L-Arginin	$\frac{[PLA]}{[L\text{-}Arg]}$	Summe der Adenylate	Energieinhalt (E.ch.)
Ruhe	-	-	-	36,17 ± 6,75	0,10 ± 0,05	0,07 ± 0,04	52,09 ± 3,10	7,03 ± 0,85	7,47 ± 0,86	3,76 ± 0,06	0,93 ± 0,01
~ erschöpft	1158 ± 119	17,3 ± 1,2	67,3 ± 9,9	9,67 ± 4,16	2,45 ± 0,61	0,17 ± 0,06	35,52 ± 4,10	14,46 ± 5,98	2,79 ± 1,21	3,87 ± 0,17	0,88 ± 0,04
Erholung 1 h	1026 ± 338	14,7 ± 3,5	68,7 ± 7,6	3,33 ± 1,26	2,11 ± 1,08	0,23 ± 0,10	38,82 ± 3,70	11,42 ± 2,57	3,48 ± 0,55	3,01 ± 0,42	0,91 ± 0,01
2 h	768 ± 290	14,6 ± 5,7	52,7 ± 0,6	7,67 ± 7,25	2,30 ± 0,79	0,27 ± 0,14	31,58 ± 2,74	14,61 ± 1,91	2,20 ± 0,44	3,34 ± 0,08	0,93 ± 0
4 h	819 ± 184	16,6 ± 2,3	58,0 ± 6,2	11,83 ± 6,25	1,95 ± 0,04	0,18 ± 0,09	32,51 ± 4,48	14,0 ± 3,10	2,42 ± 0,86	3,02 ± 0,48	0,92 ± 0
6 h	863 ± 196	16,6 ± 3,5	52,0 ± 1,7	12,17 ± 6,93	0,63 ± 0,29	0,11 ± 0,02	31,18 ± 1,37	7,76 ± 1,64	4,97 ± 1,26	3,43 ± 0,43	0,93 ± 0,01
8 h	1133 ± 484	11,4 ± 1,5	97,7 ±32,7	27,17 ±10,27	0,18 ± 0,01	0,06 ± 0,02	47,04 ± 4,02	6,57 ± 1,47	7,39 ± 1,72	3,36 ± 0,27	0,93 ± 0,02
Gesamt (n = 18)	933 ± 293	14,8 ± 3,7	64,6 ± 20,7								

Grabtätigkeit im Energiestoffwechsel relativ spät ein. Das angehäufte Octopin wurde erst nach 4 h in größerem Maße abgebaut. Eine deutliche Resynthese des Phosphagens fand ebenfalls erst nach 4 h statt. In den ersten Stunden der Erholung wurde vorübergehend Succinat gebildet. Der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit fiel nach Beendigung der Grabtätigkeit weiter ab, um dann zunächst langsam und erst nach 6 h Erholung schneller bis in die Nähe des Ruhewertes zu steigen.

e) Gegenüberstellung von „Arbeit" und Energiestoffwechsel

Mit der Aufzeichnung der Druckänderungen, die bei Aktivität auftreten, wurde es möglich, die von den Tieren geleistete Arbeit quantitativ abzuschätzen und zu vergleichen. Es ist naheliegend, auch die Daten zum Energiestoffwechsel von Tieren, die in den Versuchen (s. c und d) unterschiedliche Arbeit erbracht hatten, einander gegenüberzustellen und die quantitative Beziehung zwischen geleisteter Arbeit und Änderungen im Energiestoffwechsel zu erarbeiten (s. Abb. 51, Tab. 20). Die aufgeführten Ergebnisse wurden wie bereits geschildert an kleinen Tieren gewonnen. In der Abbildung sind zusätzlich die Werte der Einzeltiere aufgetragen. Inwieweit mit Hilfe dieser Einzelwerte weitere Aussagen möglich sind, wird unter 4.1.2 b, S. 259ff, diskutiert.

Die Tiere leisteten ihre Arbeit unter etwas unterschiedlichen Bedingungen. Während sie bei einmaliger Grabtätigkeit mit Fertigstellung einer Atemhöhle (s. Tab. 18, S. 134) hauptsächlich unter der Sandoberfläche gruben, wurden sie bei intensiver Grabtätigkeit (s. Tab. 19, S. 142) durch wiederholtes Ausgraben zum Graben veranlaßt, kamen also immer mit dem luftgesättigten Wasser in Berührung. In Tab. 20 sind daher die in der Coelomflüssigkeit gemessenen P_{O_2}-Werte aufgeführt, um das Ausmaß abschätzen zu können, in dem den Tieren Sauerstoff zur Verfügung stand. Bei den intensiv grabenden Tieren lag der P_{O_2} nach Beendigung der Grabtätigkeit mit 9,67 ± 4,16 Torr höher als bei den einmal grabenden mit 1,34 ± 0,94 Torr. Der P_{O_2} im Coelom von Tieren, die im Sand ruhten, betrug dagegen 36,17 ± 6,75 Torr. Den intensiv grabenden

Tab. 20: Gegenüberstellung von geleisteter „Arbeit", erbrachter „Leistung", Grabzeit, Veränderungen des P_{O_2} im Coelom und Veränderungen im Energiestoffwechsel. Vergleich der Daten aus Tab. 18, S. 134 und Tab. 19, S. 142.

Bedingung	„Arbeit" (cmH_2O x min)	„Leistung" (cmH_2O)	Grabzeit (min)	P_{O_2} Coelom (Torr)	PLA (µmol/g FG)	$\frac{[PLA]}{[L\text{-}Arg]}$	Energie-inhalt (E.ch.)	Octopin (µmol/g FG)	anaerober Glykolyse-flux ($\frac{nmol}{g \times min}$)
Kontrolle (n = 3)	/	/	/	36,17 ± 6,75	52,09 ± 3,10	7,47 ± 0,86	0,93 ± 0,01	0,10 ± 0,05	/
Höhle fertig (n = 5)	482 ± 124	10,6 ± 1,9	45,6 ± 9,1	1,34 ± 0,94	44,96 ± 3,13	4,87 ± 1,09	0,92 ± 0,01	0,59 ± 0,29	5,4
erschöpft (n = 3)	1158 ± 119	17,3 ± 1,2	67,3 ± 9,9	4,67 ± 4,16	35,52 ± 4,10	2,79 ± 1,21	0,88 ± 0,04	2,45 ± 0,61	18,2

Tieren stand also aufgrund ihrer Grabtätigkeit, die sie ausschließlich an der Sandoberfläche ausübten, bis zum Ende des Grabens eine größere Menge an Sauerstoff zur Verfügung als den Tieren, die tiefer im Sand ihre Atemhöhle fertigstellten.

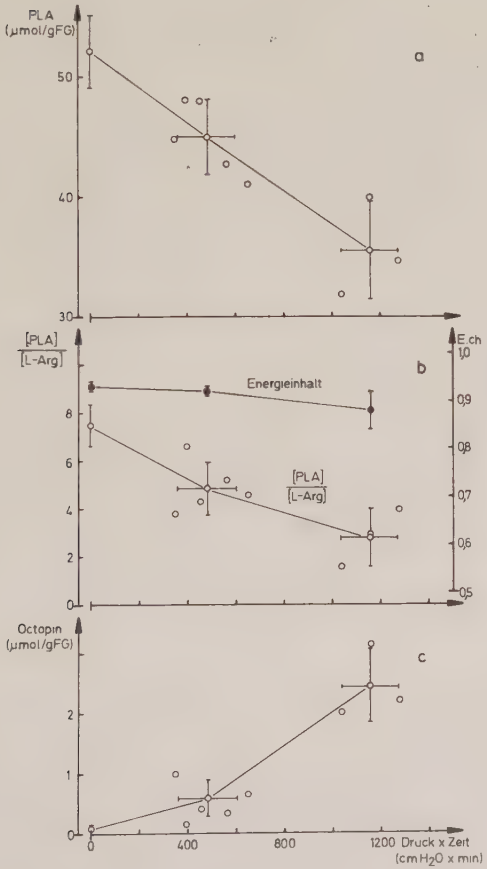


Abb. 51:
Abhängigkeit der Konzentration von Phospho-L-Arginin (a), des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin und des Energieinhaltes (E.ch) (b), sowie der Octopinkonzentration (c) im Hautmuskelschlauch kleiner Tiere von der geleisteten „Arbeit", gemessen als Druck x Zeit-Integral. Abgesehen vom Ruhewert (n = 3) wurden die Werte einzeln aufgetragen bzw. von Tieren, die unter gleichen Bedingungen (s. Text) ein ähnliches Ausmaß an Arbeit verrichtet hatten, gemittelt (n = 5 bzw. 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Einige Veränderungen im anaeroben Energiestoffwechsel zeigten den Mittelwerten zufolge trotz der unterschiedlichen O_2-Versorgung eine nahezu lineare Korrelation zu der als Druck x Zeit-Integral erfaßten Arbeit (s. Abb. 51). Dies gilt vor allem für den Phosphagen-Gehalt (s. Teilabb. a), der bei

Betrachtung der Mittelwerte ausgehend von einem Ruhewert von 52,09 ± 3,1 µmol/g FG auf 44,96 ± 3,13 µmol/g FG bei 482 ± 124 cm H_2O x min (Fertigstellung der Atemhöhle) fiel und nahezu linear weiter bis auf 35,52 ± 4,10 µmol/g FG bei 1158 ± 119 cm H_2O x min (erschöpfende Grabtätigkeit) abnahm.

Eine ähnliche Bewegung zeigte der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (Teilabb. b). Er fiel bei den gleichen Arbeitswerten von 7,47 ± 0,86 über 4,87 ± 1,09 auf 2,79 ± 1,21. Der Energieinhalt wies dagegen nur geringe Veränderungen auf. Bei einmaliger Grabtätigkeit nahm er von 0,93 ± 0,01 bis 0,92 ± 0,01, bei intensiver Grabtätigkeit dagegen etwas weiter bis auf 0,88 ± 0,04 ab.

Der Octopingehalt (Teilabb. c) stieg bei 482 ± 124 cm H_2O x min nur geringfügig von 0,10 ± 0,05 auf 0,59 ± 0,29 µmol/g FG, bei 1158 ± 119 cm H_2O x min dagegen stärker auf 2,45 ± 0,61 µmol/g FG. Ein der Arbeit proportionaler, linearer Anstieg vom Ruhewert aus ergab sich dabei nicht.

In Tab. 20 sind zusätzlich die Flußraten der anaeroben Glykogenolyse angegeben, wie sie sich allein aus der Anhäufung von Octopin ergeben. Bei 482 cm H_2O x min ergab sich eine Flußrate von 5,37 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$ und bei 1158 cm H_2O x min eine Flußrate von 18,19 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Mit welcher Flußrate unter Ruhebedingungen diese Werte zu vergleichen sind, wird unter 4.1.2, S. 256, diskutiert.

f) Situation 3: Tiere im Sand bei Niedrigwasser

In dieser Situation befanden sich die Tiere zunächst unter Ruhebedingungen in Sand, über dem luftgesättigtes Wasser stand. Sie besaßen alle eine Atemhöhle. Nach 24 h Normoxie wurde das Wasser so abgezogen, daß das Sediment wassergesättigt blieb. Die Tiere behielten bei Ebbe ihre Atemhöhlen bei und zeigten eine kontinuierliche Atemperistaltik. Bei anhaltendem Niedrigwasser neigten sie dazu, sich mit dem Vorderende an die Sandoberfläche zu begeben.

Messungen des P_{O_2} im Coelom unter Ruhebedingungen lassen darauf schließen, daß die O_2-Versorgung der Tiere im Sand

von der Korngröße des Sandes im Verhältnis zur Körpergröße abhängt. Im gleichen Sand ist die O_2-Versorgung kleiner Tiere besser als die großer Tiere. Erstere weisen einen höheren P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit auf. Während dieses Experimentes wurden die Tiere daher in Sand vom jeweiligen Fundort (Locquémeau bzw. Morgat) gehältert, um möglichst natürliche Bedingungen für große und kleine Tiere zu schaffen.

In Abb. 52 sind die Änderungen des P_{O_2} dargestellt, die sich im Coelom großer und kleiner Tiere bei Niedrigwasser ergaben. Auffällig ist dabei die Übereinstimmung der Ruhewerte. Die großen Tiere zeigten einen P_{O_2} von 18,83 ± 8,90 Torr, die kleinen Tiere einen P_{O_2} von 18,0 ± 6,24 Torr.

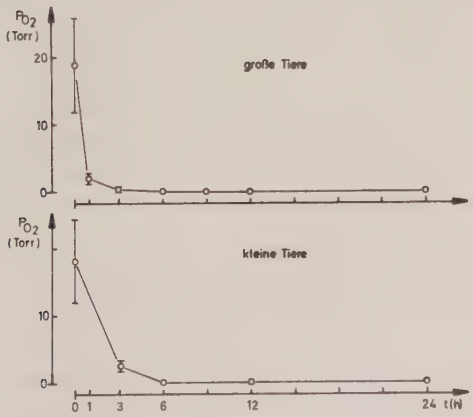


Abb. 52:
P_{O_2}-Werte im Coelom großer und kleiner Tiere nach verschiedenen Zeiten des Niedrigwassers (n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Nach der Entfernung des überstehenden Wassers fiel der P_{O_2} im Coelom ab. Die großen Tiere verbrauchten den größten Teil des Sauerstoffes in der ersten Stunde des Niedrigwassers. Der P_{O_2} erreichte einen Wert von 1,97 + 0,68 Torr entsprechend einer Abnahme des O_2-Gehaltes um durchschnittlich 1,05 Vol%. Nach 3 h war mit 0,33 ± 0,15 Torr nur noch wenig Sauerstoff meßbar. Der O_2-Gehalt hatte um weitere 0,78 Vol% abgenommen. Nach 6 h lag in der Coelomflüssigkeit kein meßbarer Sauerstoff mehr vor. Der O_2-Verbrauch des Gewebes aus der Coelom-

flüssigkeit betrug von 0 - 1 h Niedrigwasser 11,39 µl/g x h bzw. 508 nmol/g x h. Von 1 - 3 h Niedrigwasser ging der O_2-Verbrauch auf durchschnittlich 3,30 µl/g x h bzw. 147 nmol/g x h zurück. Bis auf einen Rest von 0,21 Vol% war nach 3 h sämtlicher Sauerstoff aus der Coelomflüssigkeit verbraucht. Den Ergebnissen zufolge trug der O_2-Vorrat im Coelom also hauptsächlich in der ersten Stunde des Niedrigwassers zur Sauerstoffversorgung bei.

Bei den kleinen Tieren fiel der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit in den ersten 3 h ausgehend von 18,0 ± 6,24 bis auf 2,5 ± 0,71 Torr ab, entsprechend einer Abnahme des O_2-Gehaltes um 0,51 Vol% bei einem O_2-Verbrauch des Gewebes aus dem Coelom von 1,85 µl/g x h bzw. 83 nmol/g x h. In der Zeit von 3 - 6 h wurde der O_2-Gehalt um weitere 0,48 Vol% reduziert. Der O_2-Verbrauch betrug damit in dieser Zeit durchschnittlich 1,74 µl/g x h bzw. 78 nmol/g x h. Nach 6 h war kein Sauerstoff mehr meßbar.

In Abb. 53 sind die Änderungen in den Konzentrationen von Succinat, Propionat, Acetat und Octopin in der Muskulatur (Hautmuskelschlauch mit Retraktoren) und in der Coelomflüssigkeit der kleinen Tiere dargestellt.

Der Succinatgehalt stieg in den ersten 3 h der Ebbe auf 0,50 ± 0,03 µmol/g FG, nahm bis 6 h Ebbe weiter bis auf 0,59 ± 0,17 µmol/g FG zu und fiel bis 12 h Niedrigwasser vorübergehend auf 0,34 ± 0,01 µmol/g FG ab. Nach 24 h Niedrigwasser lag er bei 0,56 ± 0,08 µmol/g FG. Eine Ausscheidung des Succinates in die Coelomflüssigkeit konnte nicht gefunden werden.

Der Propionatgehalt zeigte in den ersten Stunden des Niedrigwassers ein auffälliges Verhalten. Er stieg im Verlauf von 3 h schnell von 0,10 ± 0,01 auf 1,18 ± 0,28 µmol/g FG an, um dann ebenso rasch innerhalb der folgenden 3 h bis auf einen Wert von 0,28 ± 0,03 µmol/g FG abzufallen, der gegenüber der Ausgangskonzentration nur noch geringfügig erhöht war. In den folgenden Stunden des Niedrigwassers konnten mit 0,24 ± 0,01 µmol/g FG nach 12 h und 0,41 ± 0,03 µmol/g FG nach 24 h keine

derartig großen Konzentrationsänderungen mehr gefunden werden. Propionat wurde nur in vernachlässigbar geringem Ausmaß an die Coelomflüssigkeit abgegeben (s. Abb. 53).

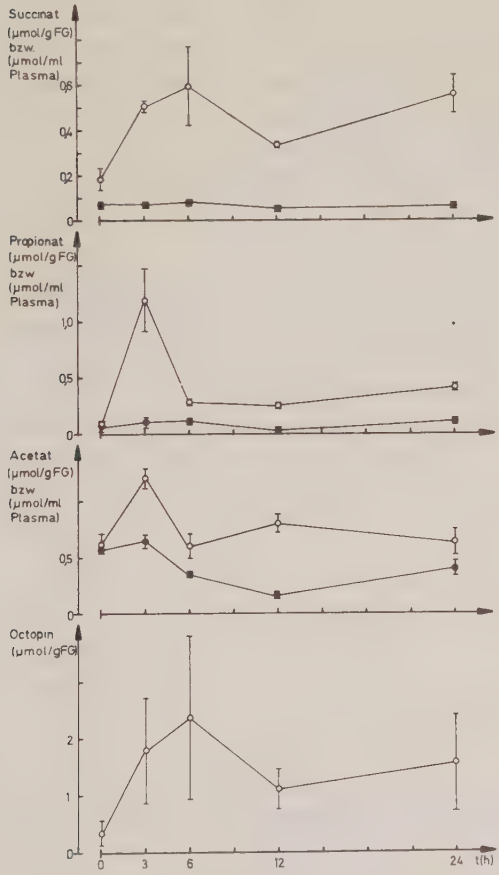


Abb. 53:
Konzentrationen von Succinat, Propionat, Acetat und Octopin im Hautmuskelschlauch (o - o) und im Coelomplasma (● - ●) kleiner Tiere nach verschiedenen Zeiten des Niedrigwassers (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Die Acetatkonzentration verhielt sich ähnlich wie der Propionatgehalt. In den ersten 3 h fand ein Konzentrationsanstieg von 0,62 ± 0,09 auf 1,20 ± 0,09 µmol/g FG statt und in den folgenden 3 h ein ebenso rascher Abfall bis auf 0,60 ± 0,11 µmol/g FG. Hier wurde der Ruhegehalt also wieder erreicht. Nach 12 h bzw. 24 h Niedrigwasser lag der Acetatgehalt mit

0,79 ± 0,07 bzw. 0,64 ± 0,11 µmol/g FG nur wenig höher als die Ausgangskonzentration von 0,62 ± 0,09 µmol/g FG.

In der Coelomflüssigkeit fand sich mit 0,57 ± 0,01 µmol/ml Plasma eine Ausgangskonzentration des Acetates, die gegenüber aerob in Wasser gehälterten Tieren (0,24 ± 0,11 µmol/ml Plasma, s. Tab. 8, S. 77) erhöht war. In den ersten 3 h des Niedrigwassers stieg der Acetatgehalt nur geringfügig auf 0,64 ± 0,06 µmol/ml Plasma an. In den folgenden Stunden der Ebbe nahm er bis unter die Ausgangskonzentration ab. Nach 6 h wurden 0,35 ± 0,02 µmol/ml Plasma und nach 12 h 0,17 ± 0,01 µmol/ml Plasma gefunden. Nach 24 h Niedrigwasser war der Acetatgehalt wieder bis auf 0,40 ± 0,07 µmol/ml Plasma gestiegen.

Die Octopinkonzentration zeigte, sichtbar an der großen Streuung, bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedliche Werte. Den Mittelwerten zufolge fand in den ersten 3 - 6 h des Niedrigwassers ein Konzentrationsanstieg von 0,33 ± 0,22 µmol/g FG auf 1,77 ± 0,95 bzw. 2,37 ± 1,44 µmol/g FG statt, dem in den folgenden 6 Stunden ein nicht signifikanter Konzentrationsabfall auf 1,10 ± 0,36 µmol/g FG folgte. Nach 24 h wurden 1,55 ± 0,85 µmol/g FG gefunden.

Zusammenfassend zeigten Succinat, Octopin und besonders extrem Propionat und Acetat in den ersten Stunden des Niedrigwassers einen Konzentrationsanstieg, dem eine Phase der Konzentrationsabnahme und anschließend eine Phase geringer Veränderungen in den Konzentrationen folgte.

Abb. 54 zeigt die Veränderungen des Gesamtadenylatgehaltes, des Energieinhaltes und des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin während 24 h Niedrigwasser. Die energiereichen Phosphate wurden in den ersten 3 h stark beansprucht. Anschließend folgte eine Phase der leichten Regenerierung und Stabilisierung.

Der Adenylatgehalt fiel erstmals in dieser experimentellen Situation deutlich ab. Er nahm in den ersten 3 h von 3,66 ± 0,59 auf 1,07 ± 0,40 µmol/g FG ab, stieg dann leicht bis auf

1,56 ± 0,75 µmol/g FG nach 6 h und 1,75 ± 0,73 µmol/g FG nach 12 h an, um bis 24 h Niedrigwasser mit 1,73 ± 0,53 µmol/g FG konstant zu bleiben.

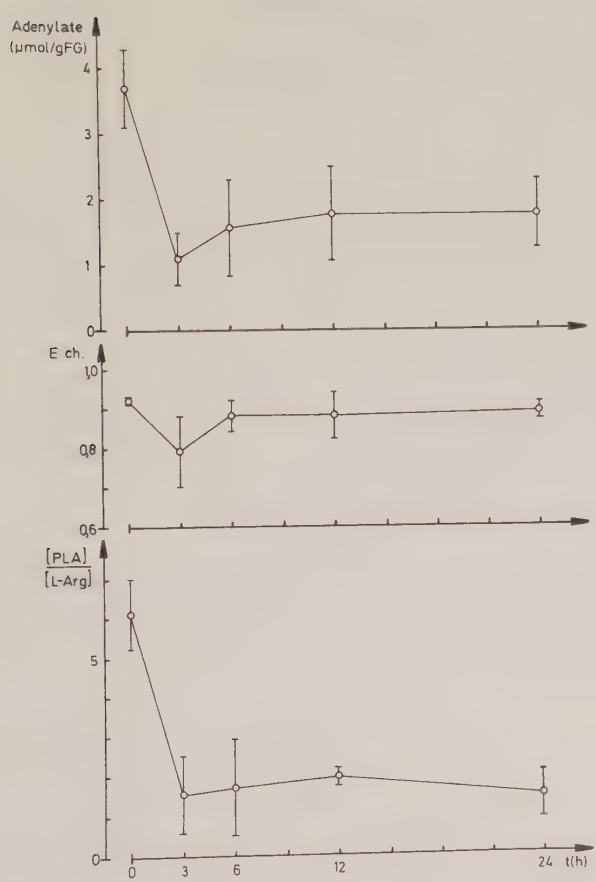


Abb. 54: Gesamtadenylatgehalt, Energieinhalt (E.ch.) und Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin im Hautmuskelschlauch kleiner Tiere nach verschiedenen Zeiten des Niedrigwassers (n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Der Energieinhalt zeigte in den ersten 3 h eine nicht signifikante Abnahme von 0,92 ± 0,01 auf 0,79 ± 0,09, um dann auf 0,88 ± 0,04 nach 6 h anzusteigen und mit 0,88 ± 0,06 nach 12 und 0,89 ± 0,02 nach 24 h konstant zu bleiben.

Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin fiel in den ersten 3 h stark von 6,09 ± 0,90 auf

1,57 ± 0,99 ab und änderte sich anschließend mit 1,74 ± 1,21 nach 6 h, 1,96 ± 0,22 nach 12 h und 1,42 ± 0,06 nach 24 h kaum noch.

g) Situation 4: Tiere im Sand (mit Atemhöhle) bei extremer Hypoxie im Wasser

In dieser Situation wurden nur die Atemphysiologie und der Säure-Basen-Haushalt an großen Tieren untersucht (s.a. 3.7.). Die Tiere befanden sich vor Versuchsbeginn im Ruhezustand in ihrem Bau im Sand. Durch Begasung des überstehenden Wassers mit Stickstoff wurde der Übergang zur Anaerobiose eingeleitet. Die Tiere zeigten während der Anaerobiose keine kontinuierliche Atemperistaltik mehr, sondern kurze, unregelmäßige Aktivitätsphasen, die mit längeren Pausen wechselten. Da der Energiestoffwechsel auch an diesen Tieren verfolgt werden sollte, wurde der Gehalt an Succinat, Propionat und Acetat in Coelomflüssigkeitsproben bestimmt, die während des Versuches genommen wurden. Nach 24 h Anaerobiose wurden die Tiere aufgearbeitet und die Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat auch im Hautmuskelschlauch gemessen.

Abb. 55 zeigt die Änderungen im P_{O_2} und im Gehalt an Succinat, Propionat und Acetat in der Coelomflüssigkeit. Der O_2-Partialdruck fiel nach dem Übergang zur Stickstoffbegasung in einer Stunde von 14,15 ± 5,42 Torr auf 1,92 ± 1,10 Torr. Nach 3 h war kein Sauerstoff mehr meßbar. Die Abnahme des P_{O_2} entsprach in der ersten Stunde einer Abnahme des O_2-Gehaltes um 0,97 Vol% bei einem Sauerstoffverbrauch des Gewebes aus dem Coelom von 10,53 µl/g x h bzw. 470 nmol/g x h. Von 1 - 3 h fiel der O_2-Gehalt um weitere 0,81 Vol% ab, entsprechend einem O_2-Verbrauch von 4,37 µl/g x h bzw. 195 nmol/g x h. Die Berechnung des O_2-Verbrauches aus der Coelomflüssigkeit gilt unter der Voraussetzung, daß die Tiere keinen Sauerstoff an das Wasser verloren.

In den ersten drei Stunden der Stickstoffbegasung stieg der Succinatgehalt im Plasma geringfügig von 0,04 ± 0,01 auf 0,09 ± 0,04 µmol/ml und erreichte nach 6 h einen Wert von

0,13 ± 0,06 µmol/ml Plasma (s. Abb. 55). Von 6 - 12 h fand eine etwas intensivere Abgabe von Succinat in die Coelomflüssigkeit statt, die zu einer Anhäufung bis auf 0,30 ± 0,09 µmol/ml Plasma führte. In der Zeit von 12 bis 24 h Anaerobiose war der Succinatgehalt nur noch geringfügig bis auf 0,37 ± 0,09 µmol/ml Plasma gestiegen. Im Hautmuskelschlauch wurde nach 24 h Anaerobiose eine Succinatkonzentration von 1,43 ± 0,42 µmol/g FG gefunden.

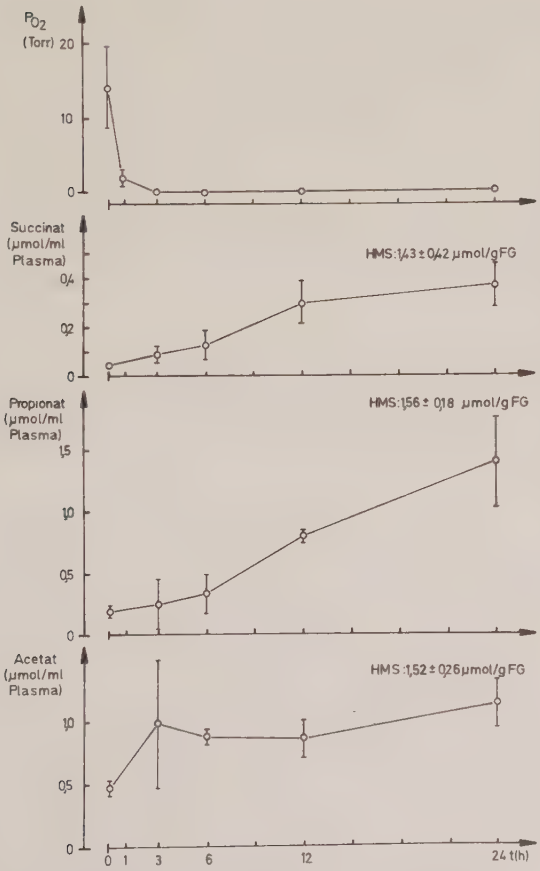


Abb. 55:
P_{O_2}-Werte im Coelom sowie Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma von drei großen Tieren nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose. Die Tiere befanden sich im Sand und hatten Kontakt mit dem überstehenden, mit Stickstoff äquilibrierten Wasser. Die Konzentrationen im Hautmuskelschlauch (HMS) derselben Tiere wurden nach 24 h Anaerobiose bestimmt. ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Der Propionat- und besonders der Acetatgehalt in der Coelomflüssigkeit zeigten in den ersten 3 h Anaerobiose bei den

drei untersuchten Tieren ein unterschiedliches Verhalten. Während bei einem Tier in dieser Zeit weder eine Acetatakkumulation (0,30 µmol/ml gegenüber einem Ruhewert von 0,36 µmol/ml) noch eine Propionatanhäufung (0,04 µmol/ml gegenüber einem Ruhewert von 0,14 µmol/ml) feststellbar war, trat bei den anderen Tieren eine starke, mit dem Konzentrationsanstieg im Hautmuskelschlauch bei Niedrigwasser vergleichbare Anhäufung von Acetat auf 1,34 bzw. 1,21 µmol/ml Plasma und eine weniger starke Anhäufung von Propionat auf 0,24 bzw. 0,45 µmol/ml Plasma auf. Dieses unterschiedliche Verhalten verursachte die starke Streuung der Werte nach 3 h Anaerobiose. Nach 6 h wurde wieder eine einheitlichere Acetatkonzentration von 0,87 ± 0,06 µmol/ml Plasma und eine Propionatkonzentration von 0,33 ± 0,08 µmol/ml Plasma gefunden.

Der Acetatgehalt änderte sich bis 24 h Anaerobiose mit 0,85 ± 0,15 µmol/ml Plasma nach 12 h und 1,13 ± 0,19 µmol/ml Plasma nach 24 h kaum noch. Im Hautmuskelschlauch wurde nach 24 h Anaerobiose ein Acetatgehalt von 1,52 ± 0,26 µmol/g FG gefunden.

Die Propionatkonzentration stieg in der Zeit von 6 - 24 h relativ kontinuierlich weiter an. Sie erreichte nach 12 h einen Wert von 0,79 ± 0,05 µmol/ml Plasma und nach 24 h einen Wert von 1,39 ± 0,37 µmol/ml Plasma.

Vergleicht man die Metabolitkonzentrationen in der Coelomflüssigkeit nach 24 h Anaerobiose im Sand und 24 h Anaerobiose im freien Wasser (kleine Tiere, s. Abb. 11, S.76 , große Tiere, s. Abb. 56, S.157), so wurde bei den großen Tieren im Sand etwa die doppelte Menge an Succinat (0,37 + 0,09 gegenüber 0,16 ± 0,02 µmol/ml Plasma bei großen Tieren bzw. 0,22 ± 0,04 µmol/ml Plasma bei kleinen Tieren) gefunden. Propionat zeigte mit 1,39 ± 0,37 gegenüber 0,63 ± 0,15 µmol/ml Plasma bei großen Tieren bzw. 0,92 ± 0,12 µmol/ml Plasma bei kleinen Tieren ebenfalls eine höhere Konzentration. Der Acetatgehalt stieg ebenfalls gegenüber 0,63 ± 0,15 µmol/ml Plasma bei großen Tieren stärker bis auf 1,13 ± 0,19 µmol/ml Plasma an.

Im Hautmuskelschlauch lagen nach 24 h Anaerobiose im Sand gegenüber 24 h Anaerobiose im Wasser (kleine Tiere, s. Abb. 8, S. 65) die gleiche Menge Succinat (1,43 ± 0,42 gegenüber 1,46 ± 0,08 µmol/g FG) aber höhere Konzentrationen von Propionat (1,56 ± 0,18 gegenüber 1,10 ± 0,06 µmol/g FG) und Acetat (1,82 ± 0,26 gegenüber 0,60 ± 0,03 µmol/g FG) vor.

h) Situation 5: Tiere verschüttet

Dieser Versuch wurde vor allem durchgeführt, um zu sehen, welche Änderungen im Säure-Basen-Haushalt auftreten, wenn die Tiere bei Anaerobiose keine Möglichkeit zum Gasaustausch mehr haben (s. 3.7.). Mit Hilfe eines Gitters und einer darüber liegenden Sandschicht sollte der Kontakt der Tiere mit dem darüber stehenden Wasser verhindert werden. Dies gelang jedoch nur für einen Zeitraum von 9 h, da nach dem Zuschütten der Atemhöhlen laut Aktivitätsaufzeichnung eine Grabtätigkeit einsetzte. Die Maschenweite des Gitters von 5 mm reichte nicht aus, das Vordringen des Introverts bis zur Sandoberfläche zu verhindern.

Der O_2-Partialdruck in der Coelomflüssigkeit war zum Zeitpunkt der ersten Messung, nach 3 h, bereits von 11,33 ± 4,73 Torr auf 0 Torr gesunken. Nach 9 h Anaerobiose wurden Coelomflüssigkeitsproben zur Bestimmung der Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat entnommen. Die Succinatkonzentration lag bei 0,27 ± 0,13 µmol/ml Plasma, der Propionatgehalt betrug 0,44 ± 0,073 µmol/ml Plasma und der Acetatgehalt 0,73 ± 0,13 µmol/ml Plasma.

Vergleicht man diese Konzentrationen mit den laut Abb. 55 nach 9 h bei Anaerobiose im Sand zu erwartenden Werten, so zeigen sich nur geringe Unterschiede. Der Succinatgehalt lag geringfügig höher als die zu erwartende Konzentration von ca. 0,21 µmol/ml Plasma, streute aber sehr stark. Der Propionatgehalt lag etwas niedriger als 0,57 µmol/ml Plasma und der Acetatgehalt ebenfalls etwas niedriger als die zu erwartenden 0,86 µmol/ml Plasma.

3.6. Stoffwechsel und O_2-Versorgung bei Anaerobiose im freien Wasser und während der anschließenden Erholung

a) Anaerobiose im freien Wasser

Für die Untersuchung des Säure-Basen-Haushaltes wurden große Tiere auch unter extremer Hypoxie im freien Wasser gehältert. Dabei wurden die Veränderungen des P_{O_2} und die Konzentrationsänderungen von Succinat, Propionat und Acetat in der Coelomflüssigkeit verfolgt. Um diese Ergebnisse den in den simulierten natürlichen Situationen ermittelten Daten gegenüberstellen zu können, sollen sie hier zusätzlich aufgeführt werden (s. Abb. 56).

Der Ausgangswert des P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit lag mit 50,33 ± 6,81 Torr höher als bei großen Tieren im Sand (mit 14,94 ± 6,09 Torr, s. S.130). Er fiel innerhalb von 2 h nach Beginn der Stickstoffbegasung auf einen Wert von 0,23 ± 0,25 Torr ab. Die Abnahme des P_{O_2} entsprach einer Abnahme des O_2-Gehaltes um 2,05 Vol% bzw. einem O_2-Verbrauch des Gewebes aus der Coelomflüssigkeit von 11,08 µl/g x h (oder 469 nmol/g x h). Diese Berechnung des O_2-Verbrauches gilt unter der Voraussetzung, daß die Tiere keinen Sauerstoff an das umgebende Wasser verloren. Nach 6 h war kein Sauerstoff in der Coelomflüssigkeit mehr meßbar. Die Tiere zeigten nur eine geringe Atemperistaltik, die in unregelmäßigen Abständen mit längeren Pausen wechselte.

Succinat, Propionat und Acetat wurden in der Coelomflüssigkeit nicht in dem Ausmaß angehäuft, wie es bei großen Tieren im Sand beobachtet worden war (s. Abb. 55, S. 153). Der Succinatgehalt stieg innerhalb von 12 h kontinuierlich von 0,05 ± 0,002 auf 0,17 ± 0,01 µmol/ml Plasma. In den folgenden 12 h war keine weitere Konzentrationszunahme mehr festzustellen.

Der Konzentrationsanstieg des Propionates verlief ähnlich wie

die Zunahme des Succinatgehaltes. Nach 6 h Anaerobiose war ausgehend von 0,03 ± 0,02 µmol/ml Plasma ein Wert von 0,25 ± 0,06 µmol/ml Plasma erreicht. Von 6 - 12 h Anaerobiose stieg der Propionatgehalt etwas stärker bis auf 0,70 ± 0,10 µmol/ml Plasma, um dann geringfügig bis auf 0,63 ± 0,15 µmol/ml Plasma abzufallen.

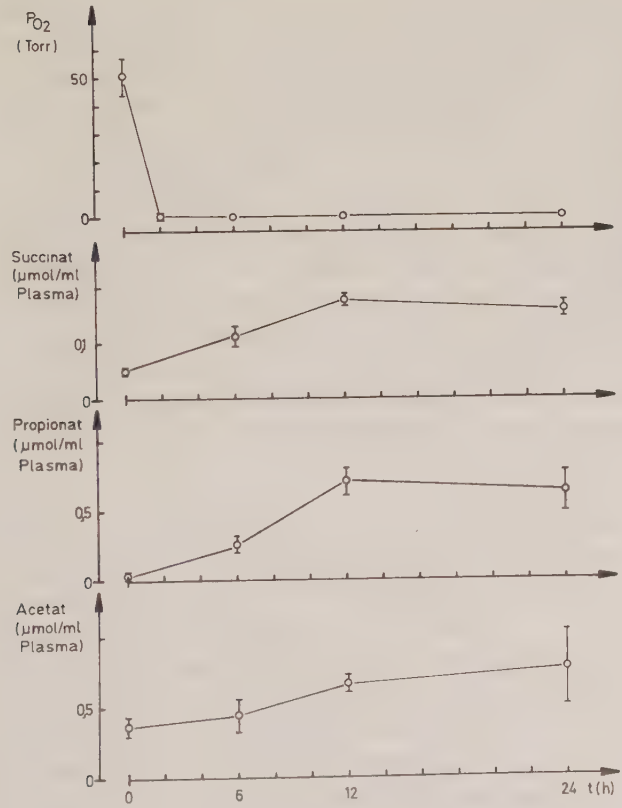


Abb. 56: P_{O_2}-Werte im Coelom sowie Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma von drei großen Tieren nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Der Acetatgehalt zeigte in den ersten 6 h der Anaerobiose nur eine geringe Zunahme von 0,36 ± 0,07 auf 0,44 ± 0,12 µmol/ml Plasma, stieg während 12 h bis auf 0,65 ± 0,07 µmol/ml Plasma

an und erreichte nach 24 h einen Wert von 0,77 ± 0,28 µmol/ml Plasma.

b) Erholung bei Normoxie nach Anaerobiose im freien Wasser

Nach der Erarbeitung der anaerobiosebedingten Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt sollte überprüft werden, ob es sich bei der nach 12 h Anaerobiose auftretenden Acidose um einen prämortalen Prozess handelt (s. 3.7.3). Daher wurde an großen Tieren die Erholungsfähigkeit von einer 24-stündigen Anaerobiose untersucht. Veränderungen im Stoffwechsel der Tiere wurden durch die Bestimmung der Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma verfolgt (s. Abb. 57). In der Abbildung wurden zusätzlich die Veränderungen des O_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit während Anaerobiose und Erholung aufgetragen. Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist zu beachten, daß die in diesem Experiment eingesetzten Tiere im Frühjahr gegraben worden waren, während alle anderen im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Tiere aus der zweiten Jahreshälfte 1979 bzw. 1980 stammten. Die Coelomflüssigkeit der hier verwandten Tiere zeigte vielleicht aufgrund vorhandener Geschlechtsprodukte einen höheren Zellanteil als bei den anderen untersuchten Tieren.

Der aerobe Ausgangswert des P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit betrug 35,83 ± 3,88 Torr. Während der Anaerobiose fiel er bis auf 0 Torr ab. In der ersten Stunde nach dem Beginn der Luftbegasung stieg der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit nur zögernd bis auf 1,80 ± 1,01 Torr. Nach 3 h wurde ein Wert von 14,0 ± 4,36 Torr erreicht, der sich bis 6 h Normoxie mit 15,50 ± 4,27 Torr nicht wesentlich erhöhte. Erst nach 12 h wurde mit 27,60 ± 5,62 Torr ein Wert gefunden, der schon in der Nähe des Ausgangswertes lag. Bis 24 h fand nur noch eine geringfügige Erhöhung des P_{O_2} auf 29,38 ± 5,02 Torr statt.

Betrachtet man die bei Anaerobiose und anschließender Erholung gefundenen Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat, so fällt im Vergleich zu Abb. 56, S. 157 auf, daß die Ausgangskonzentration des Succinates im Plasma mit 0,23 ± 0,04

gegenüber 0,05 ± 0,002 µmol/ml Plasma in diesem Experiment höher lag. Diese erhöhte Konzentration wurde auch während der Erholung nicht unterschritten. Die Ausgangskonzentrationen von Propionat und Acetat entsprachen mit 0,04 ± 0,01 bzw. 0,40 ± 0,08 µmol/ml Plasma etwa den in Abb. 56 gezeigten Werten.

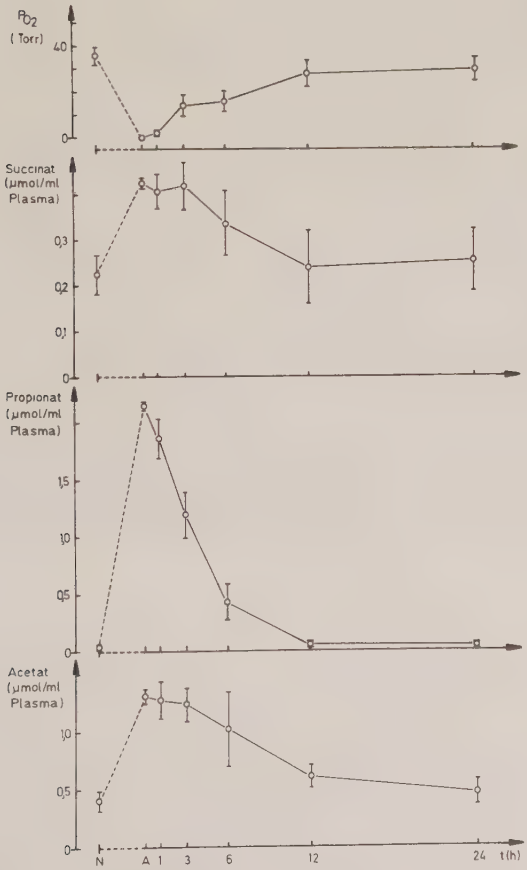


Abb. 57:
P_{O_2}-Werte im Coelom sowie Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelomplasma von vier großen Tieren nach 24 h unter Normoxie (N), 24 h Anaerobiose (A) im freien Wasser sowie verschiedenen Zeiten der aeroben Erholung nach der Anaerobiose ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Im vorliegenden Experiment fand jedoch während 24 h Anaerobiose ein sehr viel stärkerer Konzentrationsanstieg der drei

Metabolite als unter 3.6. a geschildert statt (s. Abb. 57). Der Succinatgehalt nahm um 0,20 (gegenüber 0,11) µmol/ml auf 0,43 ± 0,01 µmol/ml Plasma zu. Der Propionatgehalt stieg um 2,10 (gegenüber 0,60) µmol/ml auf 2,15 µmol/ml Plasma und die Acetatkonzentration um 0,91 (gegenüber 0,41) µmol/ml auf 1,31 ± 0,06 µmol/ml Plasma.

Während der Propionatgehalt mit einsetzender Luftbegasung sofort kontinuierlich abfiel, zeigten Succinat- und Acetatkonzentration in den ersten 3 h der Erholung nur eine zögernde Abnahme (s. Abb.).

Der Succinatgehalt lag nach 3 h Aerobiose noch bei 0,42 ± 0,05 µmol/ml Plasma, fiel dann aber kontinuierlich ab und hatte nach 12 h mit 0,24 ± 0,08 µmol/ml Plasma einen Wert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht.

Die Propionatkonzentration nahm nach dem Beginn der Luftbegasung während 6 h Normoxie kontinuierlich von 2,15 ± 0,03 auf 0,42 ± 0,16 µmol/ml Plasma ab. Nach 12 h war mit 0,05 ± 0,02 µmol/ml ein Wert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht.

Der Acetatgehalt zeigte zwischen 3 und 12 h eine kontinuierliche Abnahme von 1,24 ± 0,15 auf 0,60 ± 0,10 µmol/ml Plasma. Nach 24 h wurde die Ausgangskonzentration mit einem Wert von 0,46 ± 0,12 µmol/ml Plasma nahezu erreicht.

3.7. Anaerobiose und Säure-Basen-Haushalt

Aus Untersuchungen über die funktionsbedingte Anaerobiose ist schon lange bekannt, daß eine Akkumulation von sauren Stoffwechselendprodukten zu einer Acidifizierung des inneren Milieus führen kann (s. z.B. Meyerhof und Lohmann, 1926). An *Sipunculus nudus* wurde auch die Beziehung zwischen Säure-Basen-Haushalt und Energiestoffwechsel bei biotopbedingter Anaerobiose betrachtet. Dabei stand zunächst eine Analyse der Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt unter den Bedingungen im Vordergrund, die für die Untersuchung des Anaerobiosestoffwechsels üblich sind: Die Tiere wurden unter Lichtabschluß und extremer Hypoxie im Wasser inkubiert. Die Analyse sollte unter anderem darüber Aufschluß geben, ob dem intrazellulären pH eine grundlegende Rolle bei der Regulation des Anaerobiosestoffwechsels zukommt (s. Einl.). Im weiteren wurden die Untersuchungen auch auf Bedingungen ausgedehnt, die eine Simulation der unter 3.5., S. 129 genannten natürlichen Situationen darstellen sollten.

Die Messungen, die für die Analyse der Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt notwendig waren, umfaßten die Bestimmung des intrazellulären pH-Wertes (pH_i), des pH-Wertes in der Coelomflüssigkeit (pH_e) sowie die Messung des CO_2-Partialdruckes. Die Bicarbonatkonzentration in der Coelomflüssigkeit wurde berechnet. Zunächst mußte jedoch das Puffervermögen von Muskulatur und Coelomflüssigkeit bestimmt werden.

3.7.1. Puffervermögen in Coelomflüssigkeit und Muskulatur

Die Pufferkapazität von Coelomflüssigkeit und Muskulatur wurde durch Analyse des CO_2-Bindungsvermögens bestimmt (s. 2.3.8.). Abb. 58 zeigt die für die Coelomflüssigkeit ermittelte Bindungskurve. Das gebundene CO_2 wurde einmal in Volumen%, zum anderen in mmol HCO_3^-/l aufgetragen. Die Messungen wurden bei 15° C und konstant 22 Torr O_2 ausgeführt. Der Hämatokrit der von 5 Tieren vereinigten Coelomflüssigkeit betrug 7%. Aus den Kurven ist ersichtlich, daß oberhalb von P_{CO_2} = 11 - 12 Torr der Sättigungsbereich mit einer Bicarbonatkonzentration von 11 - 12 mmol/l erreicht war.

Trägt man die bei der Tonometrie erhaltenen pH-Werte gegen

die Bicarbonatkonzentration auf, so ergibt sich die Puffergerade der Coelomflüssigkeit im pH-Bicarbonat-Diagramm (s. Abb. 59). Der als Steigung dieser Geraden ermittelte Pufferwert der Nicht-Bicarbonat-Puffer in der „wahren" Coelomflüssigkeit (Coelomflüssigkeit mit Zellen) betrug 4,6 mmol/l x pH. Bei Annahme eines Löslichkeitskoeffizienten für CO_2 von α = 0,051 mmol/l x Torr (s. 2.3.2., S. 30) ergab sich gemäß der Henderson-Hasselbalch-Gleichung für pK' (H_2CO_3/HCO_3^-) ein mittlerer Wert von 5,93 ± 0,04. Dieser Wert wurde für die Berechnung der Isobaren im pH-Bicarbonat-Diagramm verwandt. Dem Diagramm zufolge würde eine Erhöhung des P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit z.B. von 1 auf 3 Torr eine Verschiebung des pH-Wertes von 8,10 nach 7,72 hervorrufen.

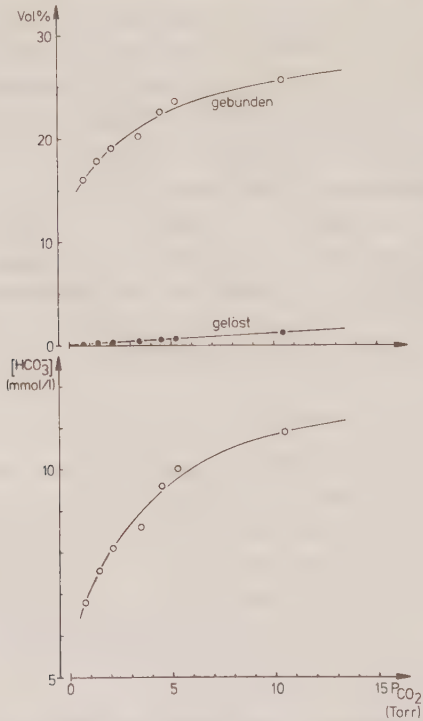


Abb. 58:
CO_2-Bindungskurve der vereinigten Coelomflüssigkeit von 5 großen Tieren. Die gebundene CO_2 Menge wurde in Volumen% bzw. in mmol HCO_3^-/l, die physikalisch gelöste CO_2-Menge in Volumen% aufgetragen, (T = 15° C, P_{O_2} = 22 Torr, Hämatokrit 7 %).

Der Pufferung der Nicht-Bicarbonat-Puffer $P_{NB} = \beta_{NB} = 4,6$ mmol/l x pH steht die Pufferung des Bicarbonatpuffers P_{Bic} gegenüber (s. 2.3.8., S. 44). Dieser Wert wurde aus den Änderungen des pH, des P_{CO_2} und der Bicarbonatkonzentration

ermittelt (s. 2.3.8., S.44 , Gl. 5), die nach 24 h Anaerobiose im Wasser gefunden worden waren. Für die großen Tiere ergab sich eine Bicarbonat-Pufferung von 16,0 mmol/l x pH, und für die kleinen Tiere ein Wert von 9,8 mmol/l x pH. Die Gesamtpufferung P_{tot} in der Coelomflüssigkeit betrug demnach 20,6 mmol/l x pH bzw. 14,5 mmol/l x pH (s. 2.3.8., S. 45 , Gl. 6).

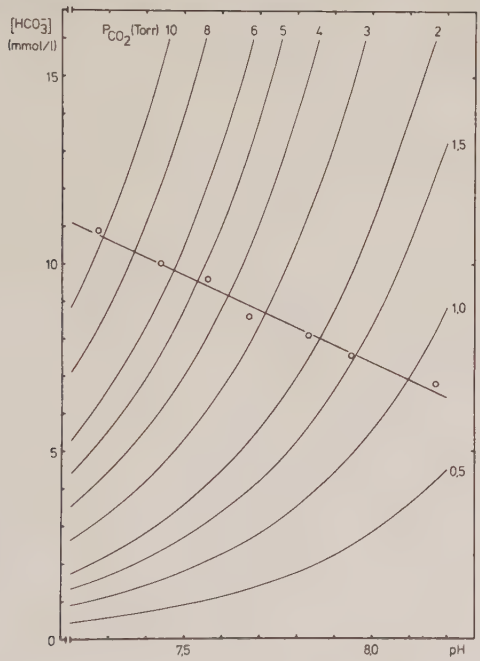


Abb. 59:
CO_2-Bindungskurve der Coelomflüssigkeit (s. Abb. 58) im pH-Bicarbonat-Diagramm. Die Steigung der sich ergebenden Geraden gibt den Pufferwert der Nicht-Bicarbonat-Puffer an.

Für das Gewebe ließ sich mit Hilfe der angewandten Methode (s. 2.3.8.) aus folgenden Gründen nur indirekt eine Puffergerade erstellen: Bei der Bestimmung des CO_2-Bindungsvermögens im Homogenat änderte sich im Verlauf der Messungen der pH-Wert und damit auch die Bicarbonatkonzentration bei gleichem P_{CO_2}. Von 0,5 bis 1,75 h nach Beginn der Tonometrie stieg der pH-Wert im Homogenat um 0,031 ± 0,002 pH-Einheiten pro Stunde an. Von 1,75 bis 3,83 nach dem Start fiel der pH-Wert um 0,062 ± 0,012 pH-Einheiten pro Stunde ab.

Die nach 2.3.8., S.43 , Gl. 2 berechneten Pufferwerte des

Homogenates unterschieden sich bis 2,5 h nach Beginn der Tonometrie nicht und nahmen anschließend zu. Die Puffergerade des Homogenatwassers (s. 2.3.8., S. 43,Gl. 2a) wurde unter Verwendung der pH- und Bicarbonatwerte in das pH-Bicarbonat-Diagramm eingetragen (s. Abb. 60), die sich nach der ersten Äquilibrierung (0,5 h) bei 1,46 Torr CO_2 ergaben. Der Mittelwert der pH-Werte betrug 7,25 ± 0,02 (n = 3) und die Bicarbonatkonzentration 1,11 ± 0,03 mmol/l Homogenat bzw. 1,14 ± 0,03 mmol/l Homogenatwasser.

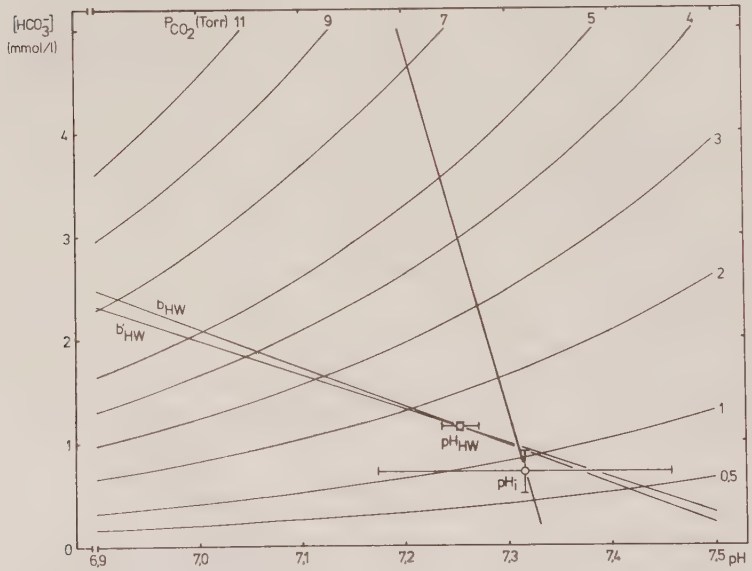


Abb. 60:
Puffergeraden des Homogenatwassers vor (b_{HW}) und nach Abzug (b'_{HW}) des im Homogenisationsmedium enthaltenen Phosphates (pH_{HW}: pH des Homogenatwassers). Die Puffergerade des Zellwassers wurde durch den pH_i gelegt, der bei aerob im Wasser liegenden Tieren gefunden wurde.

Mit Hilfe der Tonometrie wurde für das Homogenat des Hautmuskelschlauches ein Nicht-Bicarbonat-Pufferwert b_H = 3,64 ± 0,16 mmol/l x pH ermittelt. Nach Abzug der Pufferwerte des im Homogenisationsmedium enthaltenen Phosphates ergab sich b'_H =

3,21 ± 0,14 mmol/l x pH. Die Pufferwerte b und b' des Homogenatwassers betrugen dementsprechend 3,77 ± 0,16 bzw. 3,32 ± 0,14 mmol/l x pH.

Unter Anwendung von 2.3.8., S. 44, Gl. 4 wurde der Nicht-Bicarbonat-Pufferwert des Hautmuskelschlauches mit β_{NB} = 20,2 ± 0,9 µmol/g FG x pH berechnet. Hieraus ergab sich für das Muskelwasser (Gesamtgewebswasser) ein Wert von 25,5 ± 1,1 und für das Zellwasser (Intrazellulärwasser) ein Wert von 35,1 ± 1,5 mmol/l x pH. Für die Retraktoren wurde ein intrazellulärer Pufferwert β_{NB} von 32,9 ± 2,5 mmol/l x pH gefunden.

Bei 24 h Anaerobiose im Wasser (s. 3.7.2.) läßt sich für den Hautmuskelschlauch kleiner Tiere eine intrazelluläre Bicarbonatpufferung P_{Bic} von 1,3 mmol/l x pH und für die Retraktoren von 1,5 mmol/l x pH ermitteln. Aus der Nicht-Bicarbonat- und der Bicarbonatpufferung ergibt sich eine Gesamt-Pufferung P_{tot} von 36,4 mmol/l x pH für den Hautmuskelschlauch und von 34,4 mmol/l x pH für die Retraktoren.

Abb. 60 zeigt die Puffergerade der Nicht-Bicarbonatpuffer des Homogenatwassers (Hautmuskelschlauch) vor (b_{HW}) und nach (b'_{HW}) dem Abzug der Pufferwerte des Phosphates. Die Isobaren wurden mit Hilfe des für das Homogenat ermittelten pK' (H_2CO_3/HCO_3^-) von durchschnittlich 6,09 ± 0,02 bei α = 0,051 mmol/l x Torr berechnet. Die Puffergerade der Nicht-Bicarbonat-Puffer des Zellwassers läßt sich unter Berücksichtigung der gemessenen intrazellulären pH-Werte in das pH-Bicarbonat-Diagramm eintragen. Unter Ruhebedingungen bei Normoxie fand sich bei Tieren im Wasser ein intrazellulärer pH-Wert von 7,32 ± 0,14 (s. 3.7.2). Der P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit betrug 0,85 ± 0,35 Torr. Unter der Voraussetzung, daß dieser P_{CO_2} auch in der Zelle herrschte, wurde der intrazelluläre Bicarbonatgehalt des Hautmuskelschlauches mit 0,71 ± 0,21 mmol/l ermittelt. Die Puffergerade der Retraktoren wurde nicht in die Abbildung aufgenommen.

Aus der Puffergeraden, die durch den gemessenen pH_i-Wert (s.o.) gelegt wurde, ergibt sich, daß bei einem Anstieg des P_{CO_2} von

1 auf 3 Torr im Hautmuskelschlauch unter Ruhebedingungen eine Verschiebung des pH_i von 7,31 auf 7,27 zu erwarten wäre. Diese Erwartung gründet auf der Annahme, daß eine schnelle Einstellung des Gleichgewichtes zwischen dem P_{CO_2} und der Bicarbonatkonzentration erfolgt.

3.7.2. Anaerobiose im freien Wasser

Dieses erste Experiment diente der Beantwortung der Frage, ob bei Anaerobiose unter Ruhebedingungen eine Acidose auftritt und ob eine eventuell auftretende Acidose so frühzeitig einsetzt, daß sie an der Umschaltung des anaeroben Stoffwechsels beteiligt sein kann. Da der intrazelluläre pH-Wert dabei als regulatorischer Parameter auf Enzymniveau im Vordergrund steht, war die Analyse seines Verhaltens im Verlauf der Anaerobiose besonders wichtig. Der Übergang zur Anaerobiose wurde durch die Begasung mit reinem Stickstoff eingeleitet, d.h. gegenüber der Begasung mit Luft fiel der P_{CO_2} von 0,23 auf einen Wert nahe 0 Torr.

Abb. 61 zeigt die Veränderungen des pH-Wertes und der Bicarbonatkonzentration in der Zelle und in der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose. Die Bicarbonatkonzentration in der Zelle wurde aufgrund der Annahme berechnet, daß der CO_2-Partialdruck in der Zelle dem P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit entspricht.

Die intrazellulären pH-Werte im Hautmuskelschlauch und in den Retraktoren zeigten ein ähnliches Verhalten wie der extrazelluläre pH in der Coelomflüssigkeit: In den ersten 12 h der Anaerobiose ließ sich weder im Gewebe noch in der Coelomflüssigkeit eine Acidose feststellen. Dagegen trat den Ergebnissen zufolge im Hautmuskelschlauch und in der Coelomflüssigkeit sogar eine vorübergehende, leichte Alkalose auf, die nach 2 h Anaerobiose ein Maximum erreichte und nach 12 h wieder kompensiert war. Der pH-Anstieg von 0 - 2 h Anaerobiose erfolgt in der Coelomflüssigkeit von 8,09 ± 0,15 auf 8,24 ± 0,07 und im Hautmuskelschlauch von 7,32 ± 0,14 auf 7,38 ± 0,12. In den Retraktoren war mit pH_i = 7,40 ± 0,11 als Ausgangswert und mit

pH_i = 7,41 ± 0,12 nach 2 h keine Veränderung festzustellen.

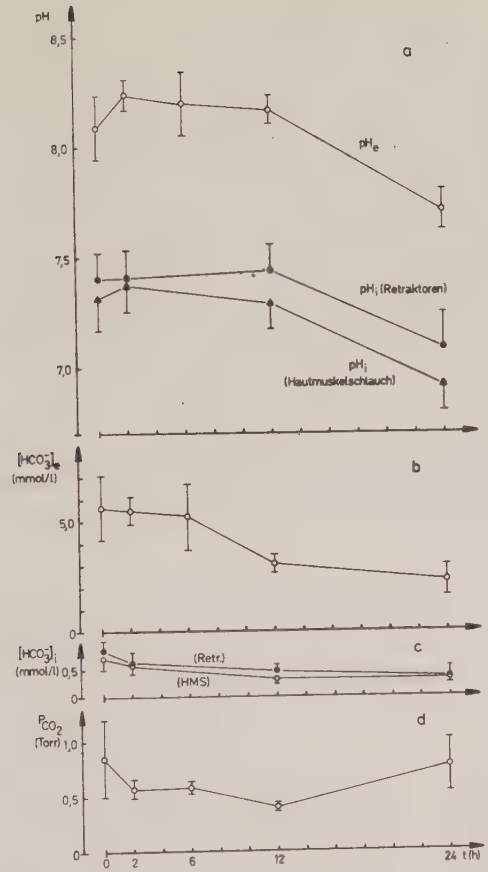


Abb. 61:
pH-Werte, Bicarbonatkonzentrationen und P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit (pH_e, $[HCO_3^-]_e$, e = extrazellulär), in den Retraktoren (Retr.) und im Hautmuskelschlauch (HMS) (pH_i, $[HCO_3^-]_i$, i = intrazellulär) kleiner Tiere nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser (n = 5, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C). Der P_{CO_2} wurde in allen Kompartimenten als gleich angesehen.

Erst nach 12 h Anaerobiose trat in der Coelomflüssigkeit (pH_e) und in den untersuchten Geweben (pH_i) eine Acidose auf. Der pH_e fiel in der Zeit von 12 bis 24 h von 8,14 ± 0,07 auf 7,71 ± 0,09, der pH_i im Hautmuskelschlauch von 7,29 ± 0,11 auf 7,02 ± 0,12 und in den Retraktoren von 7,44 ± 0,12 auf 7,09 ± 0,16.

Der P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit fiel in den ersten 2 h der

Anaerobiose von 0,85 ± 0,35 auf 0,57 ± 0,08 Torr, blieb bis 6 h konstant, nahm dann weiterhin auf 0,40 ± 0,03 Torr ab und stieg während 24 h auf 0,77 ± 0,24 Torr an.

Die aus den P_{CO_2}- und pH-Werten berechnete Bicarbonatkonzentration der Coelomflüssigkeit zeigte in den ersten 6 h nur geringfügige Änderungen. Sie fiel von 5,63 ± 1,48 auf 5,22 ± 1,49 mmol/l ab. Bis 12 h Anaerobiose erfolgte eine stärkere Konzentrationsabnahme auf 3,08 ± 0,41 mmol/l, die sich während 24 h Anaerobiose bis auf 2,31 ± 0,70 mmol/l fortsetzte.

Die geringe Bicarbonatkonzentration, die intrazellulär im Hautmuskelschlauch vorlag, fiel während der ersten 2 h der Anaerobiose von 0,71 ± 0,21 auf 0,58 ± 0,17 mmol/l Zellwasser. Nach 12 h war ein Wert von 0,33 ± 0,08 mmol/l erreicht, der sich auch während 24 h Anaerobiose nicht mehr änderte. Die Bicarbonatkonzentration in den Retraktoren veränderte sich ähnlich wie die im Hautmuskelschlauch. In den ersten 2 h fiel die Konzentration von 0,86 ± 0,20 auf 0,62 ± 0,19 mmol/l. Nach 12 h wurden 0,46 ± 0,11 mmol/l und nach 24 h 0,34 ± 0,17 mmol/l gefunden.

In Abb. 62 und 63 wurden die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit (Abb. 62) und der Hautmuskelschlauchzelle (Abb. 63) kleiner Tiere im pH-Bicarbonat-Diagramm zusammengefaßt. Innerhalb von 0 - 2 h Anaerobiose trat in der Coelomflüssigkeit eine Alkalose auf, die mit einem Abfall des P_{CO_2} verbunden war (s. Abb. 62). Von 2 - 12 h Anaerobiose wurde die Alkalose kompensiert, die Bicarbonatkonzentration und der P_{CO_2} fielen dabei weiter ab. Von 12 - 24 h trat eine eindeutige Acidose auf, verbunden mit einem Anstieg des P_{CO_2} und einer leichten Reduktion des Bicarbonatgehaltes. Die Vorgänge im Hautmuskelschlauch stimmten in der Art ihres Verlaufes mit den Vorgängen in der Coelomflüssigkeit überein (s. Abb. 63). Von 0 - 2 h Anaerobiose trat eine intrazelluläre Alkalose auf, die ähnliche Charakteristika wie in der Coelomflüssigkeit aufwies und nach 12 h bei reduziertem Bicarbonatgehalt kompensiert war. Während 24 h Anaerobiose ging die Alkalose in eine Acidose über.

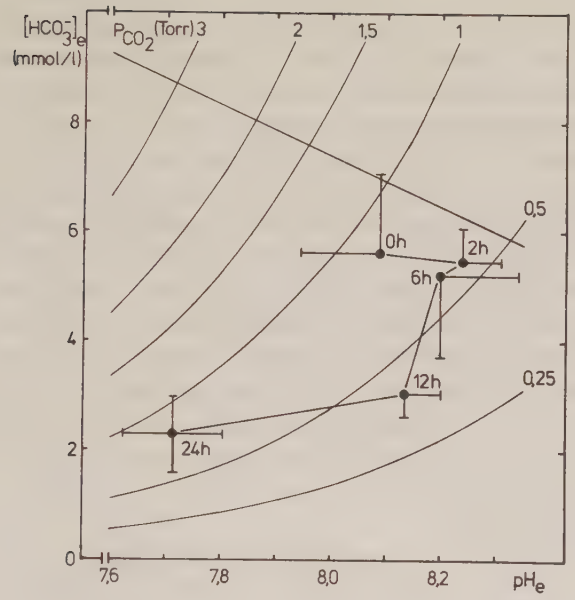


Abb. 62:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (s. Abb. 61), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm (n = 5, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

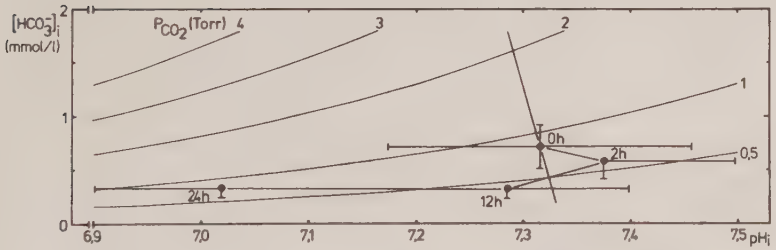


Abb. 63:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt des Hautmuskelschlauches (intrazellulär) kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (s. Abb. 61), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm (n = 5, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade des Zellwassers dar.

In den Retraktoren setzte sich die Alkalose bis 12 h Anaerobiose fort und ging anschließend bei etwa gleichbleibendem Bicarbonatgehalt in eine Acidose über, deren Ausmaß dem Ausmaß der Acidose im Hautmuskelschlauch entsprach (s. Abb. 61).

Die beschriebene leichte Alkalose zu Beginn der Anaerobiose ist aufgrund der Streuung der Daten nicht signifikant. Deshalb sollten die Veränderungen des pH an jeweils einem Tier über die gesamte Versuchsdauer verfolgt werden. Da die Tiere für jede Bestimmung des pH_i getötet werden mußten, wurden die Untersuchungen modifiziert wiederholt. Anstelle kleiner Tiere wurden große Tiere verwandt. Die Messungen beschränkten sich auf die Bestimmung von pH, P_{O_2} und P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit, da so während 24 h Anaerobiose alle Daten von einem Tier gewonnen werden konnten. Die Beschränkung auf die Messung der extrazellulären Veränderungen ist gerechtfertigt, da die Untersuchungen an kleinen Tieren gezeigt hatten, daß die Veränderungen im extra- und intrazellulären Säure-Basen-Haushalt unter den gewählten Bedingungen prinzipiell gleichläufig sind.

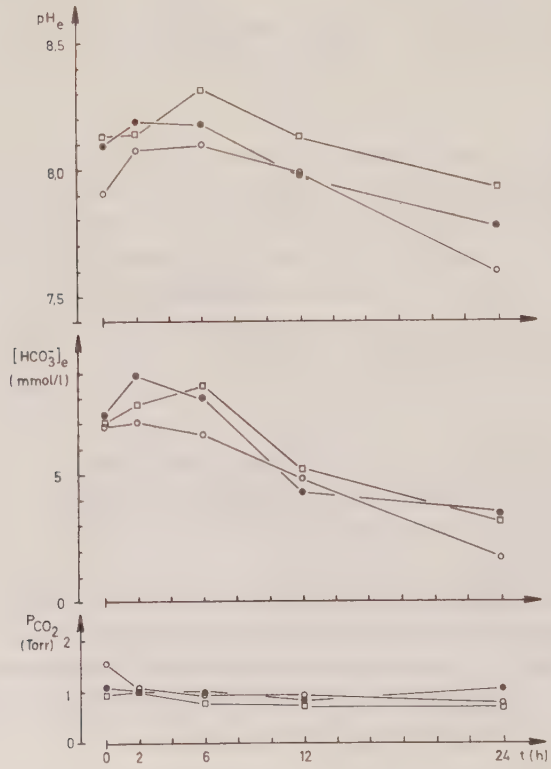


Abb. 64:
pH, Bicarbonatkonzentration und P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser (T = 15° C).

In Abb. 64 sind die an drei Einzeltieren gewonnenen Daten dargestellt, die in Abb. 65 zusätzlich gemittelt aufgetragen wurden. Zu Beginn der Anaerobiose trat bei allen untersuchten Tieren eine leichte Alkalose in der Coelomflüssigkeit auf. Sie erreichte bei Tier 1 und 3 nach 6 h ihr Maximum, bei Tier 2 bereits nach 2 h. In der Zeit von 6 bis 12 h wurde die Alkalose kompensiert bzw. ging in eine Acidose über. Mittelt man die pH-Werte, so erfolgte in den ersten 2 h der Anaerobiose ein pH-Anstieg von 8,04 ± 0,12 auf 8,13 ± 0,06. Dieser Anstieg setzte sich während 6 h bis auf 8,19 ± 0,11 fort. Anschließend fiel der pH-Wert kontinuierlich über 8,03 ± 0,09 nach 12 h bis auf 7,76 ± 0,17 nach 24 h Anaerobiose ab.

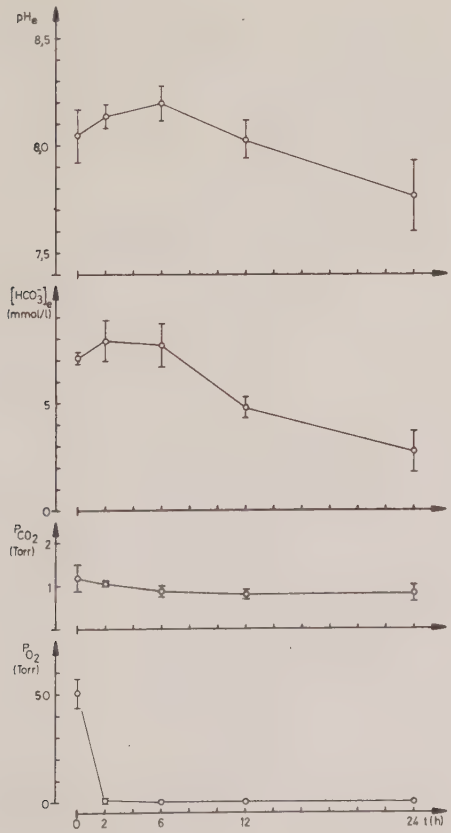


Abb. 65:
wie Abb. 64, Werte gemittelt. Zusätzlich ist der P_{O_2} aufgetragen (n=3, $\bar{x} \pm SD$, T=15°C).

Bei allen untersuchten Tieren war die Alkalose durch eine Zunahme der Bicarbonatkonzentration gekennzeichnet. Der Anstieg fiel bei Tier 1 am geringsten aus, kombiniert mit einem vergleichsweise starken Abfall des P_{CO_2} in den ersten 2 h der Anaerobiose. Das Maximum war bei Tier 1 und 2 nach 2 h, bei Tier 3 nach 6 h erreicht (s. Abb. 64). Im Durchschnitt erfolgte von 0 - 2 h Anaerobiose eine Erhöhung der Bicarbonatkonzentration von 7,09 ± 0,26 auf 7,89 ± 0,93 mmol/l (s. Abb. 65). Bis 6 h trat keine wesentliche Konzentrationsänderung auf. Anschließend nahm der Bicarbonatgehalt steil von 7,68 ± 0,99 bis auf 4,77 ± 0,46 mmol/l (nach 12 h Anaerobiose) ab. Nach 24 h wurde ein Wert von 2,76 ± 0,94 mmol/l erreicht.

Der P_{CO_2} fiel bei allen Tieren im Verlauf der ersten 6 h Anaerobiose mehr oder weniger ab, um dann bis 24 h Anaerobiose relativ konstant zu bleiben. Im Durchschnitt ergab sich eine Abnahme des P_{CO_2} von 1,18 ± 0,32 auf 1,04 ± 0,02 Torr nach 2 h bzw. 0,88 ± 0,12 Torr nach 6 h. Nach 12 und 24 h lag der P_{CO_2} bei 0,81 ± 0,11 bzw. 0,83 ± 0,18 Torr.

Die Abnahme des P_{O_2} (s. Abb. 65) wurde im Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel bereits unter 3.6. behandelt.

In Abb. 66 wurden die Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit bei Anaerobiose im freien Wasser zusammengefaßt. Die Alkalose, die schon an kleinen Tieren beobachtet werden konnte (s.o. S. 166), war durch eine leichte Abnahme des P_{CO_2} und durch einen Anstieg der Bicarbonatkonzentration charakterisiert. Sie wurde ohne weitere Änderung des P_{CO_2} innerhalb von 12 h unter Abnahme der Bicarbonatkonzentration kompensiert. Die Abnahme des Bicarbonatgehaltes und des pH setzte sich bis 24 h Anaerobiose fort. In der Zeit von 12 - 24 h trat also eine nicht kompensierte Acidose auf.

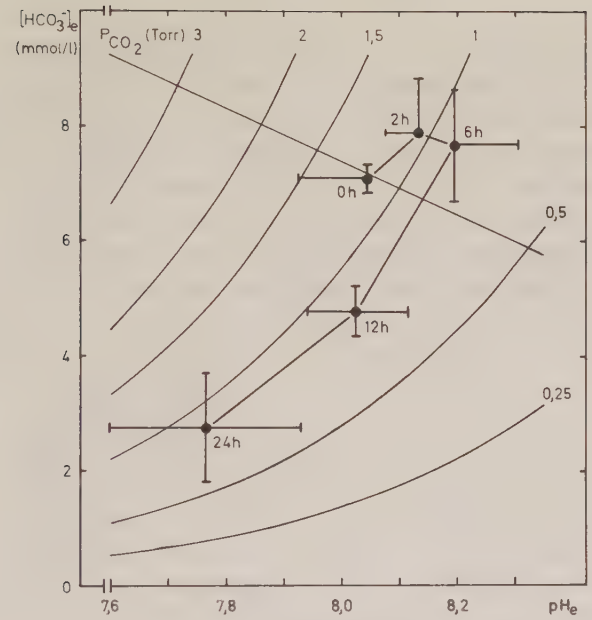


Abb. 66: Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (s. Abb. 64, 65), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm ($\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

3.7.3. Erholung nach Anaerobiose im freien Wasser

Betrachtet man die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt, die während 24 h Anaerobiose auftraten, so stellt sich die Frage, ob es sich bei der erst nach 12 h deutlich einsetzenden Acidose nicht um eine praemortale Erscheinung handelt. Um Aufschluß hierüber zu erhalten, wurde die aerobe Erholungsfähigkeit großer Tiere nach 24 h Anaerobiose untersucht.

Abb. 67 zeigt die unter diesen Bedingungen gefundenen Änderungen von pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit. Die Änderungen des P_{O_2} wurden bereits unter 3.6. geschildert.

Während 24 h Anaerobiose fiel der pH-Wert in der Coelomflüssigkeit von 7,97 ± 0,04 auf 7,73 ± 0,05, verbunden mit einem starken Rückgang der Bicarbonatkonzentration von 7,77 ± 0,23 auf 3,37 ± 0,17 mmol/l und einer leichten Abnahme des P_{CO_2} von 1,50 ± 0,19 Torr auf 1,12 ± 0,07 Torr.

In den ersten 3 h nach Beginn der Luftbegasung setzte sich die Abnahme des pH-Wertes in der Coelomflüssigkeit verstärkt bis

auf 7,44 ± 0,09 fort. Fiel der pH in der Zeit von 0 - 24 h Anaerobiose um 0,01 pH-Einheiten/h, bzw. in der Zeit von 12 - 24 h um 0,02 pH-Einheiten/h (s. 3.7.2.), so nahm er in den ersten 3 h nach Beginn der Luftbegasung sehr viel schneller, nämlich um 0,10 pH-Einheiten/h ab. Bis 6 h Normoxie blieb der pH-Wert konstant bei 7,45 ± 0,02 und stieg dann kräftig bis auf 7,80 ± 0,07 nach 12 h Normoxie an. Nach 24 h war mit 8,02 ± 0,08 ein Wert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht.

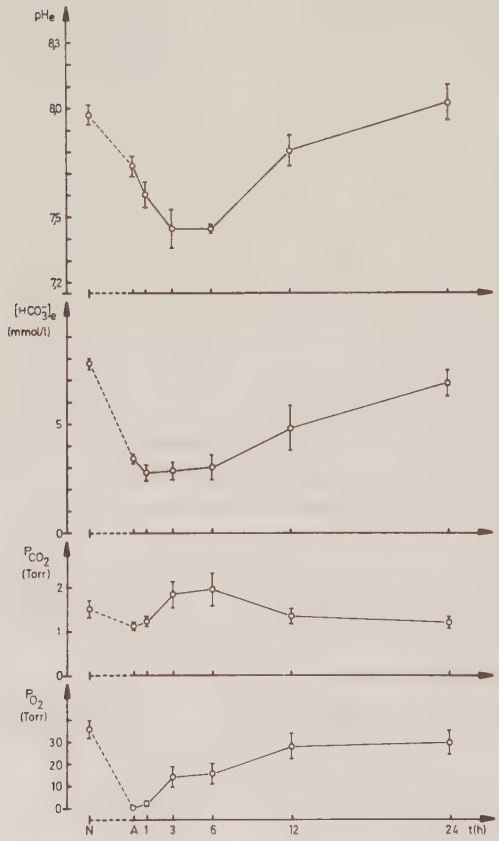


Abb. 67:
pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit von vier großen Tieren nach 24 h unter Normoxie (N), 24 h Anaerobiose (A) im freien Wasser sowie verschiedenen Zeiten der aeroben Erholung nach der Anaerobiose ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Die Bicarbonatkonzentration fiel in der ersten Stunde der aeroben Erholung ebenfalls weiter bis auf 2,75 ± 0,37 mmol/l ab. In den folgenden 5 h zeigte sie eine geringfügige Zunahme auf 2,99 ± 0,54 mmol/l, um dann kräftig bis auf 4,80 ± 1,01 mmol/l nach 12 h und 6,84 ± 0,57 mmol/l nach 24 h anzusteigen.

War der P_{CO_2} während der Anaerobiose noch leicht abgesunken, so stieg er in den ersten Stunden der Normoxie vorübergehend an. Nach 6 h war mit 1,93 ± 0,36 Torr ein Maximum erreicht. In den folgenden Stunden der Normoxie fiel der P_{CO_2} bis auf 1,34 ± 0,16 Torr nach 12 h und 1,18 ± 0,12 Torr nach 24 h ab.

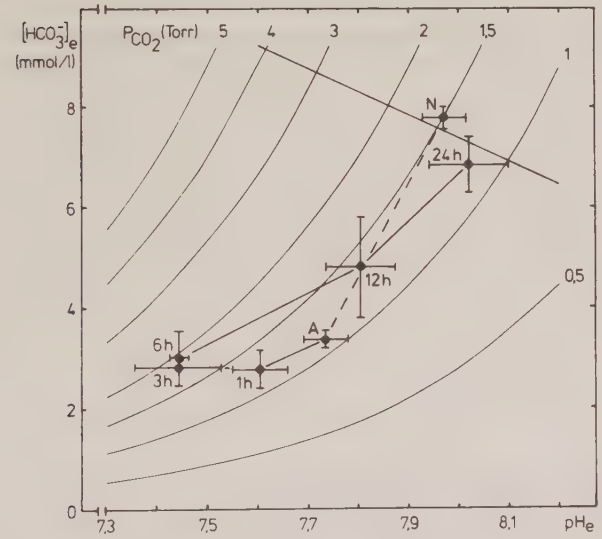


Abb. 68: Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit von vier großen Tieren während 24 h Anaerobiose und anschließender aerober Erholung im freien Wasser (N, A: s. Abb. 67), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

Abb. 68 veranschaulicht noch einmal die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt während 24 h Anaerobiose und anschließender Erholung im pH-Bicarbonat-Diagramm. Während 24 h Anaerobiose zeigte sich eine Acidose, die insgesamt von einer Reduktion des Bicarbonatgehaltes und einer leichten Abnahme des P_{CO_2} begleitet wurde. Die Acidose setzte sich in den ersten 3 h der Aerobiose verstärkt fort. Sie war in dieser Zeit zunächst mit einer Abnahme der Bicarbonatkonzentration und anschließend

mit einer Anhäufung von CO_2 bei konstantem Bicarbonatgehalt verbunden. In der Zeit von 3 bis 6 h Aerobiose traten kaum Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt auf. Anschließend wurde die Acidose kontinuierlich unter Abnahme des P_{CO_2} und Auffüllung des Bicarbonatgehaltes kompensiert.

3.7.4. Anaerobiose und Säure-Basen-Haushalt in simulierten natürlichen Situationen

Bisher wurde der Säure-Basen-Haushalt von Tieren untersucht, die in freiem Wasser gehältert worden waren. Unter normoxen Ruhebedingungen können in der Coelomflüssigkeit ein hoher P_{O_2} und ein niedriger P_{CO_2} beobachtet werden. Dies weist darauf hin, daß der Gasaustausch in dieser Situation besonders gut möglich ist. Der Gasaustausch im Sediment lebender Tiere ist dagegen eingeschränkt, wie schon die Betrachtungen zur Sauerstoffversorgung unter simulierten natürlichen Bedingungen zeigten. Neben den Beziehungen zwischen Sauerstoffversorgung und Energiestoffwechsel wurden unter diesen Bedingungen auch Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt untersucht. Dabei wurde das Verhalten des P_{CO_2} verfolgt, um den Einfluß veränderter Möglichkeiten der CO_2-Abgabe auf den Säure-Basen-Haushalt zu analysieren. Die gewonnenen Ergebnisse werden in folgender Reihenfolge aufgeführt (vergl. 3.5., S.129):

a) Tiere im Sand bei extremer Hypoxie im Wasser (≙3.5., Situation 4)
b) Tiere verschüttet (≙ 3.5., Situation 5)
c) Tiere im Sand bei Niedrigwasser (≙ 3.5., Situation 3)
d) einmaliges Eingraben mit Erholung im Sand (≙ 3.5., Situation 1)
e) erschöpfendes Graben mit Erholung im Sand (≙ 3.5., Situation 2)

Die Untersuchungen beschränkten sich dabei auf die Veränderungen in der Coelomflüssigkeit, da eine Bestimmung des pH_i zum einen aus zeitlich-organisatorischen Gründen nur noch für Situation a möglich, zum anderen mit der angewandten Methode z.B. bei Grabtätigkeit nicht durchführbar war. Der pH_i läßt sich nur bei relativ langfristigen pH-Änderungen mit Hilfe

von DMO bestimmen (s. 2.3.6., S.34).

a,b) Tiere im Sand bei extremer Hypoxie im Wasser im Vergleich mit verschütteten Tieren (≙ 3.5., Situation 4 und 5)

Diese beiden Situationen sollen im Zusammenhang behandelt werden, um ihre Gegensätzlichkeit herauszustellen. In Situation a besaßen die Tiere über ihre Atemhöhlen Kontakt zum überstehenden Wasser. In Situation b wurde dieser Kontakt experimentell unterbrochen.

In Abb. 69 sind die an großen Tieren gewonnenen Daten zusammengestellt. Auffällig ist, daß in Situation a und b der aerobe Ruhewert des pH in der Coelomflüssigkeit mit 7,80 ± 0,05 bzw. 7,93 ± 0,02 etwas niedriger als der aerobe Ruhewert im Wasser gehälterter Tiere (8,04 ± 0,12, s. Abb. 65, S. 171) lag. Auch die Werte des P_{CO_2} lagen mit 3,29 ± 0,21 bzw. 1,92 ± 0,15 Torr höher als 1,18 ± 0,32 Torr bei im Wasser befindlichen Tieren. Die Bicarbonatkonzentrationen zeigten mit 11,13 ± 0,35 bzw. 9,12 ± 0,33 mmol/l gegenüber 7,09 ± 0,26 mmol/l ebenfalls höhere Werte.

Abgesehen von den unterschiedlichen Ausgangswerten verhielten sich pH, Bicarbonatkonzentration und P_{CO_2} in Situation a ähnlich wie bei den im Wasser gehälterten Tieren (vergl. Abb. 65 S. 171 und Abb. 69). In der ersten Stunde der Anaerobiose trat eine leichte Alkalose auf. Der pH-Wert nahm von 7,80 ± 0,052 auf 7,90 ± 0,07 zu. Die Bicarbonatkonzentration stieg von 11,13 ± 0,35 auf durchschnittlich 11,95 ± 1,96 mmol/l. Die starke Streuung der Bicarbonatwerte nach 1 h Anaerobiose beruht darauf, daß bei einem von drei Tieren in dieser Zeit bereits eine leichte Abnahme der Bicarbonatkonzentration festzustellen war. In den folgenden 2 h der Anaerobiose fiel der pH in der Coelomflüssigkeit von 7,90 ± 0,07 auf 7,83 ± 0,02 und blieb bis 12 h mit 7,82 ± 0,09 konstant, während die Bicarbonatkonzentration in der Zeit von 1 - 12 h Anaerobiose kontinuierlich von 11,95 ± 1,96 auf 7,90 ± 2,01 abfiel. Von 12 - 24 h nahm der pH von 7,82 ± 0,09 auf 7,50 ±

± 0,10 ab, verbunden mit einer weiteren Reduktion des Bicarbonatgehaltes von 7,90 ± 2,01 auf 3,34 ± 1,45 mmol/l.

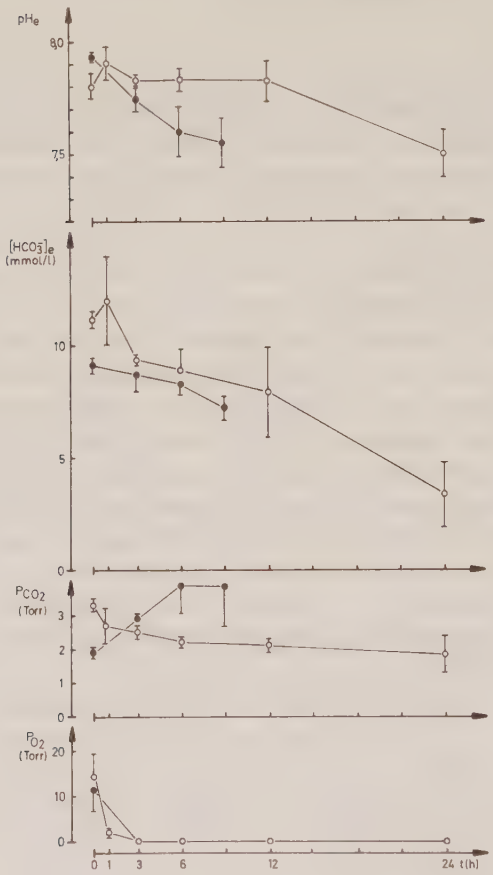


Abb. 69:
pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit von jeweils drei großen Tieren nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im Sand mit (o - o) bzw. ohne (● - ●) Kontakt mit dem überstehenden Wasser ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Der P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit fiel in Situation a während der ersten Stunde von 3,29 ± 0,21 auf 2,70 ± 0,55 Torr ab. In den folgenden Stunden zeigte sich eine weitere kontinuierliche Abnahme, bis nach 24 h ein Wert von 1,73 ± 0,53 Torr erreicht war.

Die untersuchten Parameter wiesen z.T. in Situation b ein abweichendes Verhalten auf. Über eine mögliche kurzfristige Alkalose zu Beginn der Anaerobiose kann nichts ausgesagt werden, da nach 1 h keine Messung durchgeführt worden war. (Sie erscheint jedoch unwahrscheinlich, da sie bei ähnlich eingeschränktem Gasaustausch bei Niedrigwasser nicht gefunden werden konnte).

Die Bicarbonatkonzentration zeigte ein ähnliches Verhalten wie in Situation a. Sie fiel während 9 h Aerobiose kontinuierlich von 9,12 ± 0,33 auf 7,21 ± 0,53 mmol/l. Dagegen nahm der pH während dieser Zeit von 7,93 ± 0,02 bis auf 7,55 ± 0,11 und damit sehr viel stärker als in Situation a ab. Diese Abnahme des pH-Wertes war von 0 bis 6 h mit einem kontinuierlichen Anstieg des P_{CO_2} von 1,92 ± 0,15 auf 3,76 ± 0,76 Torr verbunden. Nach 9 h wurde mit 3,74 ± 1,19 Torr kein höherer Wert mehr erreicht. Das Experiment wurde nach 9 h abgebrochen, da es den Tieren gelungen war, den Introvert an die Sandoberfläche zu bringen.

In Abb. 70 sind die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt in Situation a bzw. b zusammenfassend im pH-Bicarbonat-Diagramm dargestellt. In der ersten Stunde der Anaerobiose zeigte sich in Situation a eine kurzfristige Alkalose, die durch einen Anstieg der durchschnittlichen Bicarbonatkonzentration bei fallendem P_{CO_2} gekennzeichnet war. Während drei Stunden Anaerobiose wurde die Alkalose unter Abnahme der Bicarbonatkonzentration weitgehend kompensiert. Bei in Wasser gehälterten Tieren war die Alkalose dagegen erst nach 12 h vollständig kompensiert worden (s. Abb. 67, S. 174). Von 3 bis 12 h Anaerobiose wurde der pH bei abnehmendem P_{CO_2} und abnehmender Bicarbonatkonzentration beibehalten. Nach 12 h setzte eine Acidose ein, verbunden mit einem weiteren Abfall des P_{CO_2} und einer starken Reduktion des Bicarbonatgehaltes.

9 h Anaerobiose führten bei verschütteten Tieren ebenfalls zu einer Acidose, die aber in den ersten 6 h weniger durch die Reduktion des Bicarbonatgehaltes als durch einen drastischen Anstieg des P_{CO_2} gekennzeichnet war. In der Zeit von

6 bis 9 h stieg der P_{CO_2} nicht weiter an. Nach 9 h war es den Tieren gelungen, den Introvert an die Sandoberfläche zu bringen.

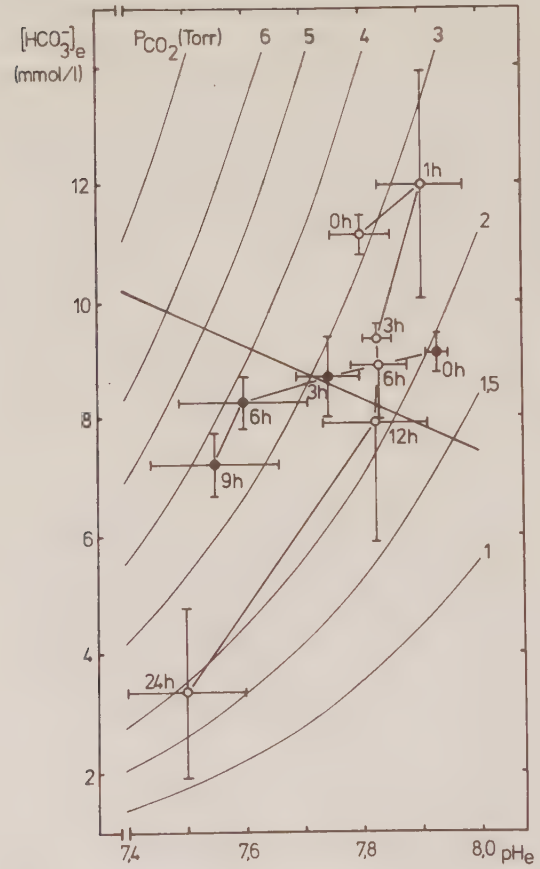


Abb. 70: Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit von jeweils drei großen Tieren während 24 h bzw. 9 h Anaerobiose im Sand mit (o - o) bzw. ohne (● - ●) Kontakt mit dem überstehenden Wasser (s. Abb. 69), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

Unter den Bedingungen der Situation a (Tiere mit Atemhöhle im Sand, extreme Hypoxie im Wasser) wurden die Unterschiede des pH_i zwischen 0 und 24 h Anaerobiose an kleinen Tieren untersucht. Der pH in der Coelomflüssigkeit fiel in dieser Zeit von 7,96 ± 0,05 auf 7,63 ± 0,17, lag also insgesamt durch-

schnittlich etwas niedriger als bei kleinen Tieren, die im Wasser gehältert worden waren (8,09 ± 0,15 bzw. 7,71 ± 0,09, s. 3.7.2.). Die Werte des intrazellulären pH unterschieden sich nicht wesentlich von denen, die bei den frei im Wasser liegenden Tieren gefunden wurden. Im Hautmuskelschlauch fiel der pH_i in der Zeit von 0 bis 24 h Anaerobiose von 7,34 ± 0,15 bis auf 7,04 ± 0,15 (n = 10). In den Retraktoren lag schon der Ausgangswert mit 7,45 ± 0,12 durchschnittlich etwas höher als im Hautmuskelschlauch. Nach 24 h wurde ein Wert von 7,18 ± 0,24 gefunden.

c) Tiere im Sand bei Niedrigwasser

Während des Niedrigwassers war den Tieren das Atemmedium Wasser bis auf einen kleinen Rest in der Atemhöhle entzogen worden. Die daraufhin einsetzende Abnahme des O_2-Partialdruckes in der Coelomflüssigkeit zeigte eine drastische Verringerung des Gasaustausches an (s. 3.5., S.147). Bei allen untersuchten Tieren fand in diesem Experiment auch ein Anstieg des P_{CO_2} statt (s. Abb. 71). Schon in der ersten Stunde des Niedrigwassers stieg der P_{CO_2} im Coelom großer Tiere von durchschnittlich 1,62 ± 0,20 auf 1,95 ± 0,14 Torr an (s. Abb. 72). Diese Zunahme setzte sich kontinuierlich bis auf 4,67 ± 1,04 Torr nach 12 h und anschließend verlangsamt bis auf 5,83 ± 1,12 Torr nach 24 h fort. Die nach 24 h gefundenen Daten wurden jedoch unter etwas veränderten Bedingungen gewonnen, da die Tiere nach so unnatürlich langer Zeit des Niedrigwassers die Tendenz zeigten, den Sand zu verlassen. Tier 1 und 3 hatten nach 24 h zu etwa einem Fünftel, Tier 2 jedoch bereits nach 12 h zu einem Drittel der Körperlänge den Sand verlassen. Auch die untersuchten kleinen Tiere (s.u.) befanden sich nach 24 h Niedrigwasser mit einem geringen Teil ihres Körpers an der Luft.

Die Veränderungen des pH in der Coelomflüssigkeit aller untersuchten Tiere zeigten eine mit Beginn des Niedrigwassers unmittelbar einsetzende Acidose an. In der ersten Stunde fiel der pH von 8,07 ± 0,13 auf 7,96 ± 0,11 ab. Die relativ großen Streuungen sind allein auf die großen Unterschiede

zwischen den Ausgangswerten von 7,95 bis 8,21 zurückzuführen. Dies wird bei Betrachtung der Einzelauftragungen in Abb. 71 deutlich. In den folgenden Stunden des Niedrigwassers fiel der pH kontinuierlich weiter ab, bis nach 12 h ein Wert von 7,58 ± 0,14 und nach 24 h ein Wert von 7,42 ± 0,15 erreicht war.

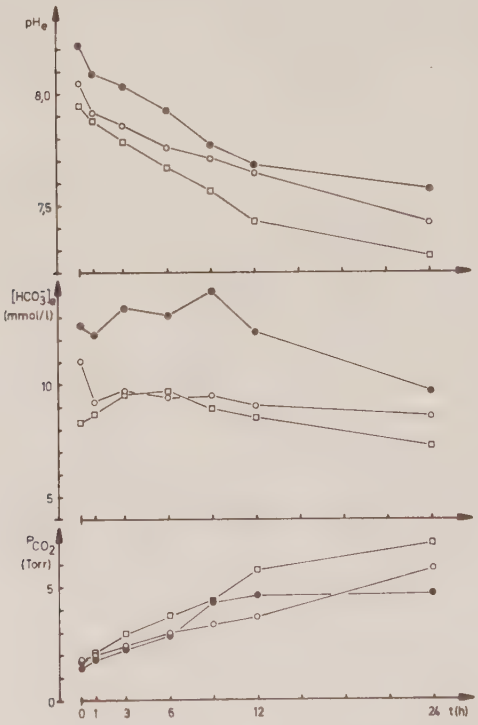


Abb. 71:
pH, Bicarbonatkonzentration und P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren nach verschiedenen Zeiten des Niedrigwassers (T = 15° C). o - o Tier 1, ● - ● Tier 2, □ - □ Tier 3.

Die Bicarbonatkonzentration zeigte bei den drei untersuchten Tieren ein unterschiedliches Verhalten, so daß bis 9 h Niedrigwasser keine eindeutige Tendenz feststellbar war. Bei Tier 1 und 2 nahm die Bicarbonatkonzentration in der Coelomflüssigkeit in der ersten Stunde ab. Im Durchschnitt aller Tiere erfolgte die Abnahme von 10,67 ± 2,22 auf 10,04 ± 1,89 mmol/l. Bei Tier 3 konnte in dieser Zeit eine geringe

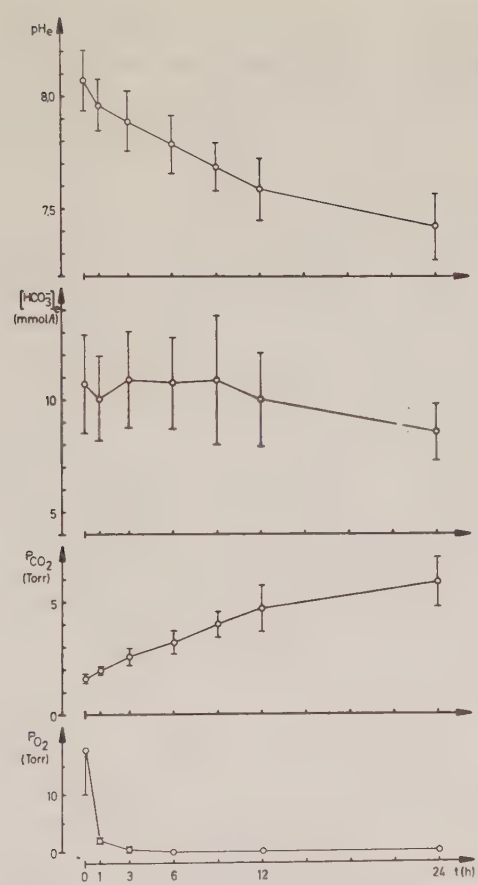


Abb. 72:
wie Abb. 71, Werte gemittelt (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Zusätzlich sind die Veränderungen des P_{O_2} im Coelom aufgetragen.

Konzentrationszunahme beobachtet werden, die anschließend auch für Tier 2 feststellbar war und bei beiden Tieren bis 6 bzw. 9 h Niedrigwasser anhielt. Bei Tier 1 traten von 1 bis 9 h Niedrigwasser nur geringfügige Konzentrationsänderungen auf (s. Abb. 71). Bei der Bildung der Mittelwerte sind die starken Streuungen auch hier allein durch die unterschiedlichen Ausgangswerte von 8,30 bis 12,66 mmol/l (Mittelwert 10,67 ± 2,20 mmol/l) bedingt. Bis 9 h Niedrigwasser blieben die Mittelwerte relativ konstant. Nach 9 h fiel die

Bicarbonatkonzentration in allen Tieren mehr oder weniger stark ab. Durchschnittlich wurde ausgehend von 10,86 ± 2,90 mmol/l nach 9 h ein Wert von 9,96 ± 2,08 mmol/l nach 12 h und ein Wert von 8,53 ± 1,26 mmol/l nach 24 h erreicht.

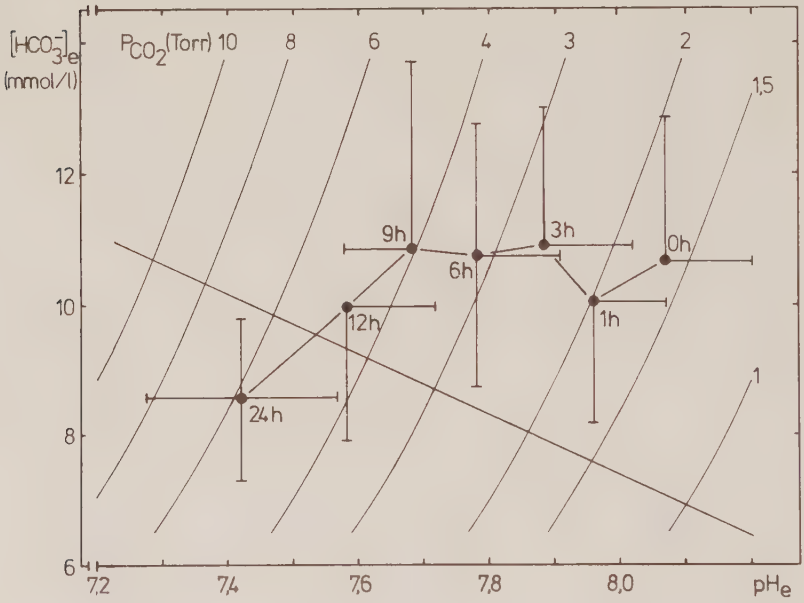


Abb. 73:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren während 24 h Niedrigwasser (s. Abb. 71, 72), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

In Abb. 73 wurden die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt großer Tiere bei Niedrigwasser zusammenfassend dargestellt. Ausgehend vom aeroben Ruhewert bei überstehendem, normoxen Wasser zeigte sich bei Niedrigwasser eine unmittelbar einsetzende Acidose, die durch einen kontinuierlich steigenden P_{CO_2} gekennzeichnet war. Die Bicarbonatkonzentration blieb im Durchschnitt bis 9 h relativ konstant in der Nähe des Ausgangswertes. Nach 9 h begann der Bicarbonatgehalt unter weiterem Anstieg des P_{CO_2} abzunehmen.

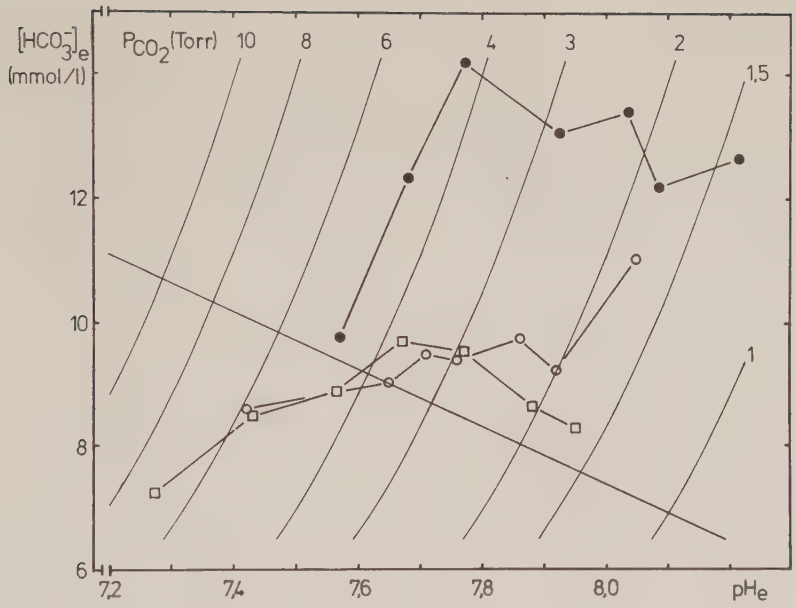


Abb. 74:
wie Abb. 73, Einzelauftragung der Werte (s. Abb. 71) (T = 15° C)
o - o Tier 1, ● - ● Tier 2, □ - □ Tier 3.

In Abb. 74 ist im Vergleich dazu der unterschiedliche Verlauf der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Einzeltiere dargestellt. Während die Auftragungen bei Tier 2 und 3 bis 9 h bzw. 6 h Niedrigwasser etwa parallel zur Puffergeraden verlaufen, zeigen die Veränderungen bei Tier 1 eine Richtung, die nur in der Zeit von 1 bis 3 h etwa parallel der Richtung der Puffergeraden ist, dann aber durch Abnahme der Bicarbonatkonzentration von der Richtung der Puffergeraden abweicht. Nach 9 h fällt besonders die starke Abnahme der Bicarbonatkonzentration bei Tier 2 auf, die nur noch mit einem geringen Anstieg des P_{CO_2} verbunden ist. Dies kann wohl eindeutig darauf zurückgeführt werden, daß Tier 2 den Sand schon mit einem großen Teil des Körpers verlassen hatte und somit ein weiterer Anstieg des P_{CO_2} unterbunden wurde.

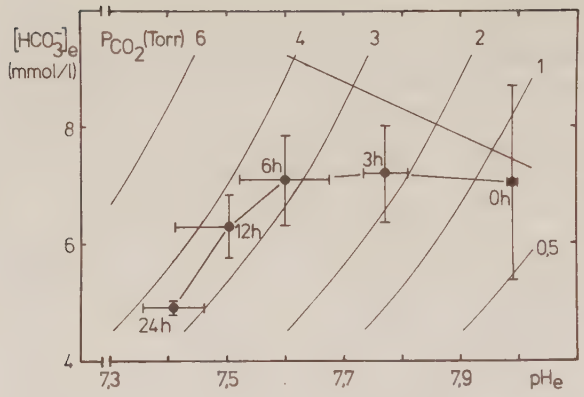


Abb. 75: Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere während 24 h Niedrigwasser, dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

In Abb. 75 wurden die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt der für die Untersuchungen des Stoffwechsels aufgearbeiteten kleinen Tiere zusammengefaßt (vergl. Abb. 53, S. 149). Bis 6 h Niedrigwasser zeigte sich ausgehend von pH = 7,98 ± 0,003 eine Acidose, die bei konstantem Bicarbonatgehalt durch einen Anstieg des P_{CO_2} gekennzeichnet war. Der P_{CO_2} nahm von 1,31 ± 0,32 auf 3,18 ± 0,06 Torr zu, während der pH bis auf 7,60 ± 0,08 fiel. Bis 12 h Niedrigwasser nahm der Bicarbonatgehalt von 7,10 ± 0,79 bis auf 6,31 ± 0,57 mmol/l ab. Dabei stieg der P_{CO_2} nur noch geringfügig von 3,18 ± 0,06 Torr nach 6 h auf 3,58 ± 0,45 Torr nach 12 h an. Von 12 bis 24 h Niedrigwasser war die Acidose nur noch durch einen weiteren Abfall der Bicarbonatkonzentration und nicht mehr durch eine Zunahme des P_{CO_2} gekennzeichnet. Damit wurden mit 3,45 ± 0,44 Torr in kleinen Tieren nach 24 h Niedrigwasser geringere CO_2-Partialdrucke erreicht als in großen Tieren mit 5,83 ± 1,12 Torr. Der pH-Wert in der Coelomflüssigkeit zeigte nach 12 h einen Wert von durchschnittlich 7,50 ± 0,09 und nach 24 h einen Wert von 7,41 ± 0,05. Die Bicarbonatkonzentration betrug nach 24 h Niedrigwasser 4,89 ± 0,01 mmol/l.

d) einmaliges Eingraben mit Erholung im Sand

In den bisher geschilderten Situationen wurden passive Tiere bestimmten Änderungen in ihrer Umgebung unterworfen. Wie

jedoch z.B. die Schilderung von Situation b (Tiere verschüttet) erkennen läßt, reagieren die Tiere auf die Veränderungen z.T. mit aktiver Ortsveränderung, die sie gegebenenfalls erst nach Stunden in eine günstigere Situation bringt. Demgegenüber stellt sich die Frage nach dem Einfluß kurzfristiger, aber intensiver Aktivität der Tiere auf den Säure-Basen-Haushalt. In einem Experiment wurden die Tiere zu einmaligem Eingraben veranlaßt, das stets mit der Fertigstellung einer Atemhöhle endete (s. a. 3.4.).

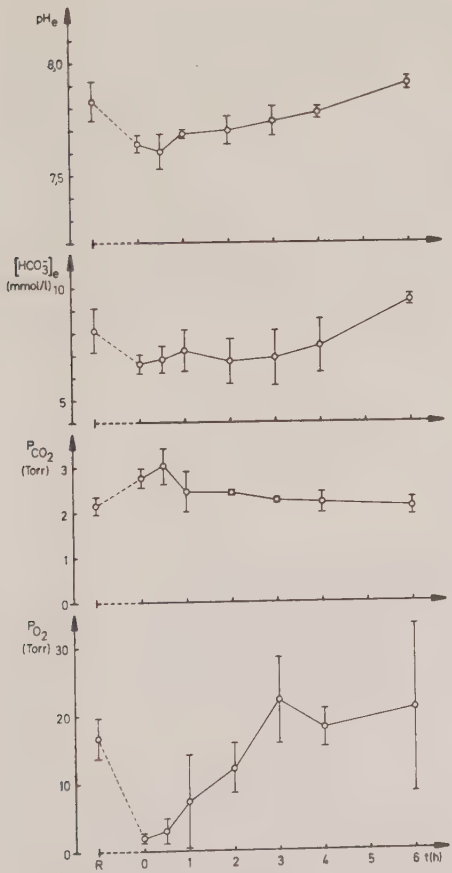


Abb. 76:
pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren nach 24 h Aerobiose im Sand (Ruhewert R), einmaligem Eingraben mit Herstellung einer Atemhöhle (Zeitpunkt 0) sowie verschiedenen Zeiten der aeroben Erholung im Sand ($\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Abb. 76 zeigt die bei dieser Grabtätigkeit auftretenden Änderungen in pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren. Die Veränderungen des P_{O_2} wurden bereits beschrieben (s. Abb. 47, S.135). Der pH fiel bis zur Fertigstellung der Atemhöhle von 7,83 ± 0,09 auf 7,64 ± 0,04. Damit war ein Anstieg des P_{CO_2} von 2,15 ± 0,19 auf 2,73 ± 0,21 Torr und eine Abnahme der Bicarbonatkonzentration von 8,07 ± 0,97 auf 6,60 ± 0,41 mmol/l verbunden.

In der ersten halben Stunde nach Fertigstellung der Atemhöhle fiel der pH noch etwas weiter bis auf 7,61 ± 0,08 ab, begleitet von einem weiteren leichten Anstieg des P_{CO_2} auf 3,02 ± 0,39 Torr und einer Zunahme der Bicarbonatkonzentration auf 6,79 ± 0,60 mmol/l. Die Erhöhung des Bicarbonatgehaltes setzte sich im Verlauf der Erholung den Mittelwerten zufolge nur zögernd fort. Nach 3 h lag der Gehalt unverändert bei 6,84 ± 1,22 mmol/l. Nach 4 h war er auf 7,39 ± 1,19 mmol/l gestiegen. Die von 1 - 4 h nach Grabende auftretende Streuung des Bicarbonatgehaltes ist Ausdruck der unterschiedlichen Erholungsgeschwindigkeit der untersuchten drei Tiere. Nach 6 h Erholung lag der Bicarbonatgehalt relativ einheitlich bei 9,41 ± 0,21 mmol/l.

Der pH-Wert nahm ausgehend von 7,61 ± 0,08 zunächst rasch auf 7,68 ± 0,02 nach 1 h zu. Anschließend setzte sich der Anstieg des pH langsam und kontinuierlich bis auf 7,91 ± 0,03 nach 6 h fort.

Der rasche Anstieg des pH-Wertes in der Zeit von 0,5 bis 1 h nach Fertigstellung der Atemhöhle war mit einer schnellen Abnahme des P_{CO_2} von 3,02 ± 0,39 auf 2,69 ± 0,45 Torr verbunden (s. Abb.). In den folgenden Stunden der Erholung fiel der P_{CO_2} kontinuierlich ab, bis nach 6 h ein Wert von 2,09 ± 0,19 Torr erreicht war.

Abb. 77 veranschaulicht die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt im pH-Bicarbonat-Diagramm. Ausgehend vom Ruhewert zeigte sich bei Grabtätigkeit eine Acidose, die bis zur Fertigstellung der Atemhöhle mit einer Abnahme des Bicarbonatge-

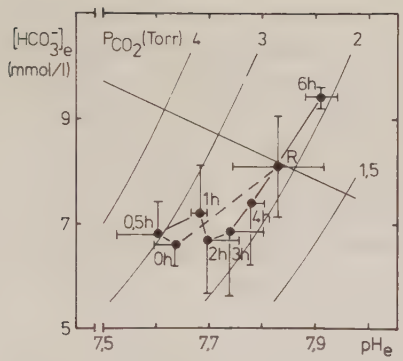


Abb. 77:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit von drei großen Tieren während einmaliger Grabtätigkeit mit Herstellung einer Atemhöhle und anschließender Erholung im Sand (R, Oh: s. Abb. 76), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm ($\bar{x} \pm SD$, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

haltes und einem Anstieg des P_{CO_2} verbunden war. In der ersten halben Stunde der Erholung setzte sich die Acidose unter weiterer CO_2-Anhäufung noch fort, jedoch fand bereits ein leichter Anstieg des Bicarbonatgehaltes statt. Anschließend wurde die Acidose kompensiert, begleitet von einer Zunahme des Bicarbonatgehaltes und einer Reduktion des P_{CO_2}. Dieser Prozeß wurde in der Zeit von 1 bis 4 h Erholung vorübergehend unterbrochen. Nach 6 h wurde erneut ein Ruhewert erreicht.

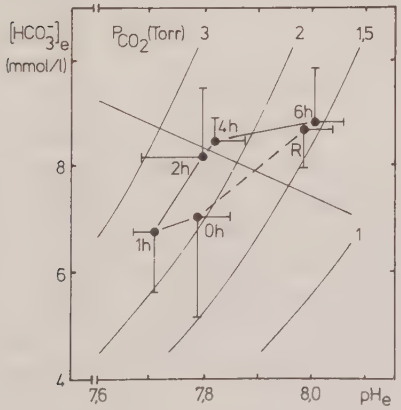


Abb. 78:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere während einmaliger Grabtätigkeit mit Herstellung einer Atemhöhle und anschließender Erholung im Sand, dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm (Ruhewert R und alle Erholungszeiten: n = 3; Fertigstellung der Atemhöhle = Zeitpunkt 0 der Erholung: n = 5, $\bar{x} \pm SD$, T = 15°C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

Abb. 78 zeigt zusammenfassend die Änderungen im Säure-Basen-Haushalt der für die Untersuchung des Stoffwechsels aufgear-

beiteten kleinen Tiere (vergl. Abb. 48, S. 136). Hier konnte bei Grabtätigkeit ebenfalls eine Acidose beobachtet werden, die unter Abnahme des Bicarbonatgehaltes und Anstieg des P_{CO_2} verlief. Diese Acidose setzte sich nach Fertigstellung der Atemhöhle noch etwa eine Stunde fort. In den nächsten Stunden wurde sie kompensiert. In der Zeit von 1 bis 4 h nach Fertigstellung der Atemhöhle stieg der pH unter Zunahme der Bicarbonatkonzentration an. Nach 4 h wurde das CO_2 wieder abgegeben, bis nach 6 h ein P_{CO_2}-Wert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht war.

Der pH-Wert fiel bis zur Fertigstellung der Atemhöhle von 7,99 ± 0,05 auf 7,79 ± 0,06 ab, verbunden mit einem Anstieg des P_{CO_2} von 1,63 ± 0,28 auf 2,19 ± 0,44 Torr und einer Abnahme der Bicarbonatkonzentration von 8,69 ± 0,76 auf 7,05 ± 1,30 mmol/l. 1 h nach Fertigstellung der Atemhöhle hatten sich die acidotischen Prozesse mit pH = 7,71 ± 0,04, P_{CO_2} = 2,39 ± 0,19 Torr und einer Bicarbonatkonzentration von 6,76 ± 1,12 mmol/l fortgesetzt. In den nächsten Stunden kehrten sich die geschilderten Vorgänge um. Der pH hatte nach 6 h mit 8,01 ± 0,06 erneut einen Ruhewert erreicht, der P_{CO_2} war bis auf 1,58 ± 0,38 Torr gefallen, und die Bicarbonatkonzentration lag mit 8,82 ± 1,03 mmol/l wieder in der Nähe des Ausgangswertes.

e) erschöpfendes Graben mit Erholung im Sand

Durch wiederholtes Ausgraben konnten die Tiere zu erschöpfender Grabtätigkeit angeregt werden. Da die großen Tiere unter diesen Bedingungen keine Erholungsbereitschaft im Sand zeigten, beschränkt sich die Darstellung mit Ausnahme von Abb. 81 auf die an kleinen Tieren beobachteten Vorgänge. Wie schon unter 3.4. und 3.5. d geschildert, stellten sich die erschöpften Tiere keine Atemhöhle mehr her, sondern blieben bis zur vollständigen Erholung so im Sand, daß nur noch das caudale Ende sichtbar war.

Der pH in der Coelomflüssigkeit fiel während der Grabtätigkeit von 7,96 ± 0,05 auf 7,54 ± 0,14 ab. In dieser Zeit

stieg der P_{CO_2} von 1,66 ± 0,27 auf 3,14 ± 0,21 Torr an, und die Bicarbonatkonzentration nahm von 8,69 ± 0,08 auf 6,27 ± 1,43 mmol/l ab (s. Abb. 79). Der Sauerstoffverbrauch aus der Coelomflüssigkeit wurde bereits beschrieben (s. Abb.49, S. 139). In der ersten Stunde nach Beendigung der Grabtätigkeit fiel der pH weiter auf 7,44 ± 0,17, verbunden mit einem fortgesetzten Anstieg des P_{CO_2} auf 3,59 ± 0,80 Torr und einer weiteren Abnahme des Bicarbonatgehaltes auf 5,50 ± 1,31 mmol/l.

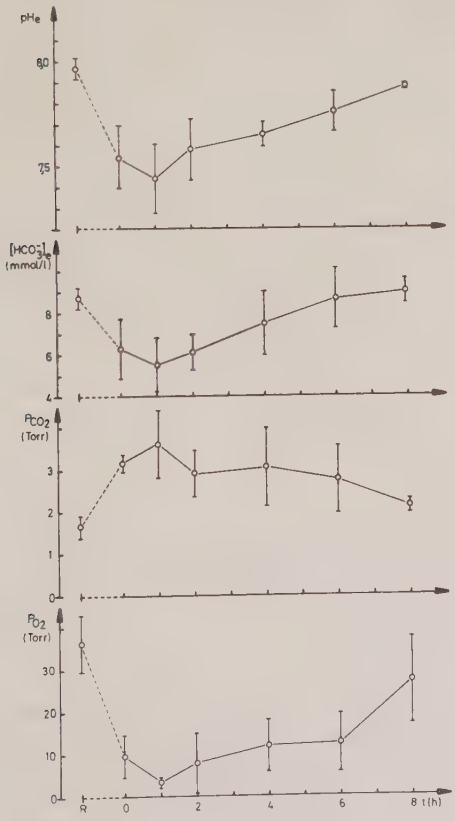


Abb. 79:
pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere nach 24 h Aerobiose im Sand (Ruhewert R), erschöpfendem Graben (Zeitpunkt 0) sowie verschiedenen Zeiten der aeroben Erholung im Sand (n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

In den folgenden Stunden der Erholung trat eine Umkehr der beschriebenen Vorgänge ein. Der pH stieg während der zweiten Stunde zunächst rasch von 7,44 ± 0,17 auf 7,58 ± 0,14 und dann langsamer und kontinuierlich weiter an, bis nach 8 h mit 7,88 ± 0,004 ein Wert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht war.

Die Bicarbonatkonzentration nahm nach der ersten Stunde kontinuierlich von 5,50 ± 1,31 mmol/l bis auf 8,98 ± 0,61 mmol/l nach 8 h zu. Der P_{CO_2} fiel in der Zeit von 1 - 2 h nach Beendigung des Grabens rasch von 3,59 ± 0,80 auf 2,90 ± 0,56 Torr ab, um dann langsamer bis auf 1,12 ± 0,16 Torr nach 8 h abzunehmen.

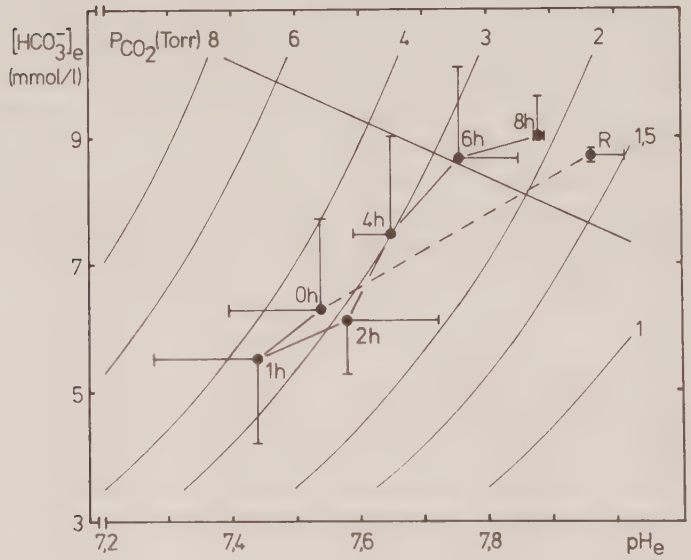


Abb. 80:
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere während erschöpfender Grabtätigkeit und anschließender Erholung im Sand (s. Abb. 79), dargestellt im pH-Bicarbonat-Diagramm (n = 3, $\bar{x}$ ± SD, T = 15° C). Die Gerade stellt die Puffergerade der Coelomflüssigkeit dar.

In Abb. 80 sind die geschilderten Vorgänge im pH-Bicarbonat-Diagramm zusammenfassend dargestellt. Während der Grabtätigkeit trat demnach eine intensive Acidose auf, die mit einem Anstieg des P_{CO_2} und einem Rückgang des Bicarbonatgehaltes verbunden war. Diese Acidose setzte sich auch in der ersten Stunde nach Beendigung des Grabens noch fort. Nach 1 h begann eine Kompensation der Acidose. Sie erfolgte unter Abgabe von CO_2 und Auffüllung des Bicarbonatgehaltes, bis nach 8 h ein Ruhewert in der Nähe des Ausgangswertes erreicht war.

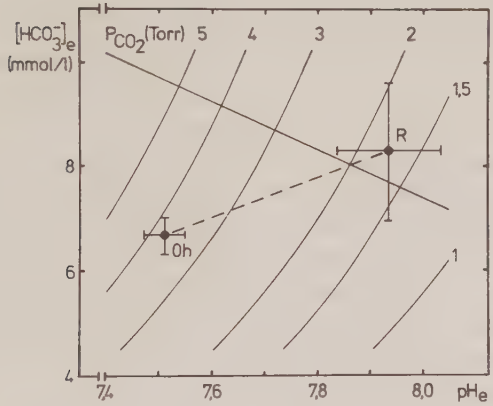


Abb. 81: Veränderung im Säure-Basen-Haushalt von drei großen Tieren während erschöpfender Grabtätigkeit (R: Ruhewert; Oh: Grabende, Oh Erholung, vergl. Abb. 80) ($\bar{x}$ ± SD, T = 15° C).

Abb. 81 zufolge bestätigte sich das Ausmaß der an kleinen Tieren bei intensiver Grabtätigkeit gefundenen Acidose auch an großen Tieren. Der pH in der Coelomflüssigkeit fiel von 7,94 ± 0,11 auf 7,51 ± 0,04, verbunden mit einem Anstieg des P_{CO_2} von 1,66 ± 0,27 auf 3,70 ± 0,19 Torr und einem Rückgang der Bicarbonatkonzentration von 8,30 ± 1,35 auf 6,66 ± 0,36 mmol/l. Die Stunden der Erholung sind nicht aufgetragen, da die Tiere während der Erholung den Sand verließen.

3.8. Vorläufige Bilanz: Anaerobiosestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt

Bisher wurden die gewonnenen Ergebnisse zum einen unter dem Aspekt der Beziehung zwischen Sauerstoffversorgung und Energiestoffwechsel und zum anderen unter dem Aspekt der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt zusammengestellt. Dabei konnten die Daten zum Energiestoffwechsel der Muskulatur, zur Atemphysiologie und zum Säure-Basen-Haushalt zunächst bei der Untersuchung kleiner Tiere erarbeitet werden. Die Experimente wurden mit großen Tieren wiederholt, um Gewißheit zu erlangen, daß die so gewonnenen Ergebnisse repräsentativ für den Ablauf der Veränderungen in jedem Tier sind. Hier ließen sich pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2} und P_{O_2} sowie die Konzentrationen von Succinat, Propionat und Acetat in Coelomflüssigkeitsproben bestimmen, die zu verschiedenen Versuchszeiten denselben Tieren entnommen worden waren. Der so gewonnene Einblick in den zeitlichen Ablauf stellt beim qualitativen und beim quantitativen Vergleich der zu verschiedenen Versuchszeiten an verschiedenen kleinen Tieren erarbeiteten Ergebnisse eine wichtige Kontrolle dar. Diese Kontrolle ermöglicht den Versuch einer quantitativen Bilanzierung der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt und im Energiestoffwechsel.

Zusammenfassend kann bei Betrachtung von Kapitel 3.5., 6., 7. festgehalten werden, daß die an kleinen Tieren erarbeiteten Veränderungen in der Regel mit den Daten übereinstimmten, die an großen Tieren gefunden worden waren. Auf Unterschiede wird in der Diskussion eingegangen.

3.8.1. Anaerobiose im freien Wasser

Eine fundierte quantitative Bilanz konnte nur für diese einfachste experimentelle Möglichkeit der Anaerobiose durchgeführt werden, da nur hier der intrazelluläre pH während des gesamten Versuches verfolgt wurde. Das Verfahren der quantitativen Bilanzierung wurde bereits unter 2.3.9., S. 45 ff. dargestellt. Voraussetzung für eine solche Bilanz ist die Berechnung der Menge der freigesetzten oder gebundenen Protonen aus den gemessenen, metabolisch bedingten Veränderungen

im Säure-Basen-Haushalt (s. 2.3.9. Gl. 1,2,4,5). Die ermittelte Protonenmenge ist anschließend der Protonenmenge gegenüberzustellen, die aus dem anaeroben Stoffwechsel zu erwarten ist.

Durch dieses Vorgehen wurde Auskunft darüber erwartet, ob gefundene Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt durch den anaeroben Energiestoffwechsel erklärbar sind. Für die Bilanzierung wurden die unter 3.1.1. geschilderten, bei Anaerobiose kleiner Tiere im freien Wasser gefundenen Veränderungen im Energiestoffwechsel verwandt (s. Abb. 82). Mit Abb. 83 sind die ebenfalls an kleinen Tieren gefundenen Änderungen im Säure-Basen-Haushalt den Konzentrationsänderungen wesentlicher Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels in der Muskulatur (s. Abb. 82) gegenübergestellt.

Da die Retraktoren mit 6,86 ± 0,65 % nur einen geringen Teil der gesamten Muskulatur darstellen, wurden die Vorgänge im Hautmuskelschlauch zur Vereinfachung als repräsentativ für das gesamte Gewebe angesehen. Tab. 1, S. 20 zufolge nimmt die Coelomflüssigkeit 52,32 ± 2,62 %, abgerundet 52 % des Gesamtgewichtes ein. Dementsprechend wurde der Anteil des Gewebes mit 48 % und der Anteil des Gewebewassers nach 2.3.6., S. 37 mit 38 % veranschlagt. Der Gewebezelle als einem Kompartiment wurde die Coelomflüssigkeit incl. Extrazellulärwasser des Gewebes als zweites Kompartiment gegenübergestellt. Die in µmol/ml Plasma bestimmten Metabolitkonzentrationen wurden bei den Berechnungen unter Vernachlässigung des Metabolitgehaltes der Coelomzellen so behandelt, als ob sie in µmol/ml Coelomflüssigkeit ermittelt worden wären.

Tab. 21 zeigt die metabolische Protonenbilanz des Säure-Basen-Haushaltes der Coelomflüssigkeit bzw. des Zellwassers. Zusätzlich wurden die für die beiden Kompartimente berechneten Protonenmengen in mmol/l Körperwasser zusammengefaßt. Der für 6 h Anaerobiose nicht bestimmte pH_i wurde graphisch aus Abb. 83 ermittelt und in die Berechnung mit einbezogen.

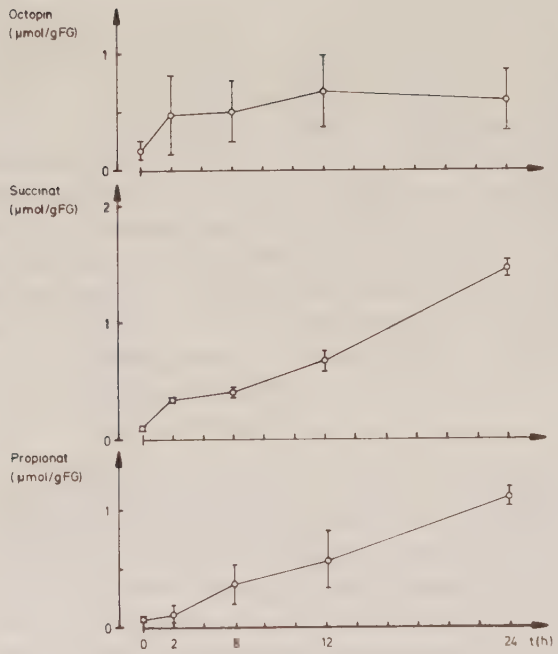


Abb. 82: Konzentrationen von Octopin, Succinat und Propionat im Hautmuskelschlauch nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser (vergl. Abb. 8 und 10, S.65, und S. 69) (n = 3, $\bar{x} \pm SD$, T = 15° C).

Tab. 21: Protonenbilanz in Coelomflüssigkeit, Zellwasser und gesamtem Körperwasser, errechnet aus den Mittelwerten der metabolisch bedingten Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt der Coelomflüssigkeit und der Hautmuskelschlauchzelle (s. Abb. 83). Die Angabe der Protonenmengen erfolgt für verschiedene Zeiträume von 0 bis 24 h Anaerobiose im freien Wasser in mmol/l. Für das Zellwasser ist zusätzlich der effektive Nicht-Bicarbonat-Pufferwert β_{NBeff} in mmol/l x pH angegeben.

Zeitraum (h)	Coelomflüssigkeit ΔH^+	Zellwasser β_{NBeff}	Zellwasser ΔH^+	Körperwasser ΔH^+
0 - 2	-0,55	39,90	- 2,52	-1,04
2 - 6	+0,45	40,16	+ 1,33	+0,65
6 - 12	+2,43	45,55	+ 2,80	+2,28
12 - 24	+2,73	47,30	+12,62	+5,18
0 - 24	+5,06	47,30	+14,44	+7,13

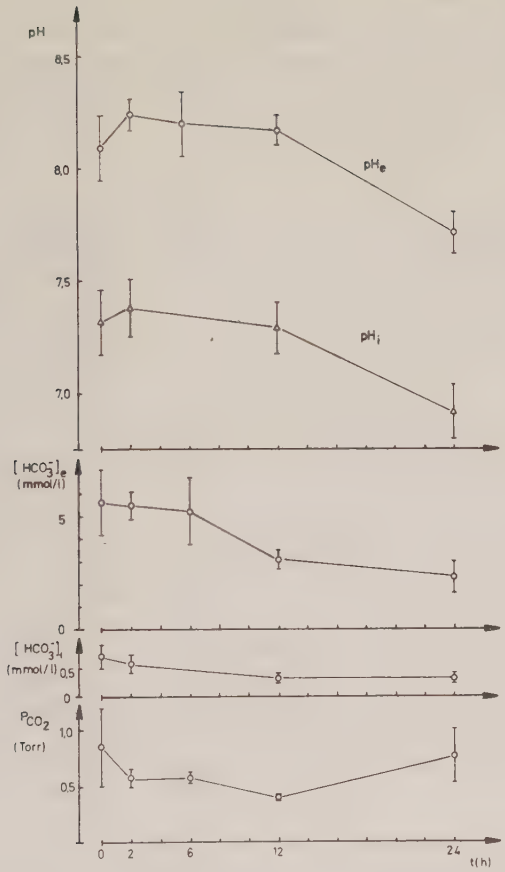


Abb. 83:
pH-Werte, Bicarbonatkonzentrationen und P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit (pH_e, $[HCO_3^-]_e$) und im Hautmuskelschlauch (pH_i, $[HCO_3^-]_i$) kleiner Tiere nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser (vergl. Abb. 61, S. 167) (n = 5, $\bar{x} \pm$ SD, T = 15°C). Der P_{CO_2} wurde in beiden Kompartimenten als gleich angesehen.

Für die Berechnung der Protonenmengen im Zellwasser mußte zunächst der effektive intrazelluläre Nicht-Bicarbonat-Pufferwert β_{NB} berechnet werden. Da dieser Pufferwert sich mit der Menge an hydrolysiertem Phospho-L-Arginin ändert (s. 2.3.9. S. 47), ist er in Tabelle 21 für den betrachteten Versuchszeitraum angegeben. Abb. 84 zeigt die für die Zeit von 0 - 24 h Anaerobiose ermittelte intrazelluläre Gesamt-Pufferung von 48,6 mmol/l x pH im Vergleich zu dem bei Ruhetieren experimentell gefundenen Wert von 36,4 mmol/l x pH. Aus der

Abbildung wird ersichtlich, daß der pH_i ohne Hydrolyse von Phospho-L-Arginin theoretisch während 24 h Anaerobiose auf einen Wert von 6,92 gesunken wäre. Die Abnahme des pH_i wird durch die Hydrolyse des Phospho-L-Arginin also um 25% reduziert.

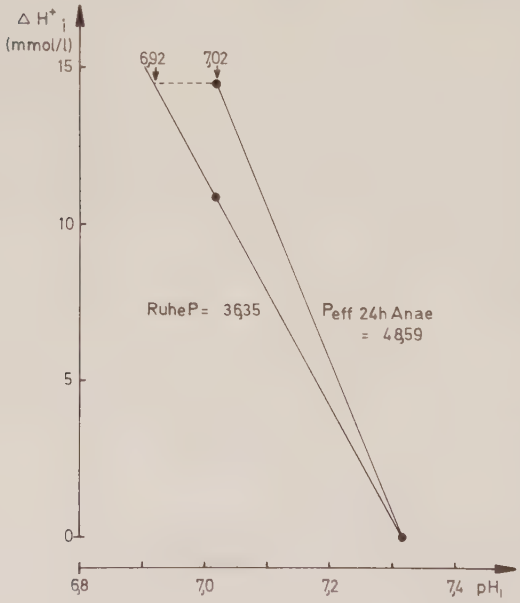


Abb. 84: Graphische Darstellung des Einflusses der Hydrolyse von Phospho-L-Arginin auf die intrazelluläre Pufferung P während 24 h Anaerobiose im freien Wasser ($P_{eff} = \beta_{NBeff} + \beta_{Bic}$). Wäre der Nicht-Bicarbonat-Pufferwert während der Anaerobiose konstant geblieben ($\beta_{NB\ Ruhe} + P_{Bic} = P_{Ruhe}$), so wäre der pH_i auf 6,92 anstelle des gemessenen Wertes von 7,02 gefallen.

Tab. 22 zeigt die Konzentrationsänderungen der Metabolite, die im anaeroben Energiestoffwechsel einen Einfluß auf den Säure-Basen-Haushalt haben könnten. Sie wurden aus den Konzentrationen der Metabolite in Hautmuskelschlauch und Coelomflüssigkeit in mmol/l Körperwasser berechnet. Im Unterschied zu Tab. 9 S. 78 sind in dieser Tabelle die Metabolitmengen nicht enthalten, die in das Inkubationswasser ausgeschieden wurden. Sie wurden in der Annahme von der Bilanz ausgenommen, daß sie den Organismus in undissoziierter Form verlassen. Eine quantitative Korrelation zwischen Aspartatabbau und Alaninakkumulation

Tab. 22: Umsatzraten verschiedener Metabolite des anaeroben Stoffwechsels während 24 h Anaerobiose in mmol/l Körperwasser. Die Berechnung erfolgte für Metabolite, die für den Säure-Basen-Haushalt relevant sind, aus den Mittelwerten der Konzentrationen im Hautmuskelschlauch und im Coelomplasma (s. Tab. 3 - 6 und 8, Kap. 3.1.1). Die Protonenmengen (ΔH^+), die sich aus den Konzentrationsänderungen ergeben, sind ebenfalls in mmol/l Körperwasser angegeben. Eine Gegenüberstellung zu den gefundenen metabolisch bedingten Änderungen (ΔH^+_{met}) im Säure-Basen-Haushalt schließt sich an (vergl. Tab. 21).

Metabolit	0-2 h	ΔH^+	2-6 h	ΔH^+	6-12 h	ΔH^+	12-24 h	ΔH^+	0-24 h	
Malat	+0,113	+0,226	-0,049	-0,098	+0,04	+0,08	-0,032	-0,064	+0,07	+0,14
Asparat	-0,16	-0,32	-0,33	-0,66	0	0	-0,03	-0,06	-0,53	-1,06
Alanin	+0,16	+0,16	+0,33	+0,33	0	0	+0,03	+0,03	+0,53	+0,53
Succinat	+0,13	+0,26	+0,04	+0,08	+0,17	+0,34	+0,39	+0,78	+0,74	+1,48
Propionat	+0,03	+0,03	+0,16	+0,16	+0,42	+0.42	+0,36	+0,36	+0,96	+0,96
Acetat	-0,08	-0,08	+0,20	+0,20	+0,19	+0,19	-0,02	-0,02	+0,28	+0,28
Octopin	+0,19	+0,19	+0,02	+0,02	+0,08	+0,08	-0,04	-0,04	+0,24	+0,24
Zwischensumme ΔH^+	-	+0,46	-	+0,04	-	+1,11	-	+0,99	-	+2,56
Phospho-L-Arginin	-3,48	-0,74	-0,04	-0,06	-3,25	-0,89	+0,47	-0,65	-6,30	-2,39
ΔH^+ Metabolite	-	-0,28	-	-0,02	-	+0,22	-	+0,34	-	+0,17
ΔH^+_{met} Säure-Basen-Haushalt	-	-1,04	-	+0,65	-	+2,28	-	+5,18	-	+7,13

konnte bei der Untersuchung des Energiestoffwechsels nicht eindeutig nachgewiesen werden. In der Tabelle 22 wurde jedoch eine dem Aspartatabbau stöchiometrische Alaninbildung angenommen.

Aus den Konzentrationsänderungen der sauren Metabolite wurde die erwartete Anlieferung von Protonen entsprechend den unter 2.3.9, S. 49 formulierten Annahmen berechnet. Weiterhin wurde die bei der Hydrolyse des Phospho-L-Arginins erwartete Aufnahme von Protonen berechnet. Diesem Betrag wurde bei Betrachtung der Zeiträume von 2-6, 6-12 und 12-24 h die Menge an Protonen addiert, die bei der stattfindenden Verschiebung des pH_i von der Phosphatmenge aufgenommen wurde, die in den vorhergehenden Zeiträumen freigesetzt worden war. Tab. 23 gibt die Aufnahme von Protonen bei der Hydrolyse von Phospho-L-Arginin an, die bei den verschiedenen pH_i-Werten zu erwarten ist.

Tab. 23: Quantitative Aufnahme von Protonen bei der Spaltung von Phospho-L-Arginin, berechnet für die pH_i-Werte im Hautmuskelschlauch, die nach verschiedenen Zeiten der Anaerobiose im freien Wasser erreicht wurden. Angabe in mol H^+/mol Phospho-L-Arginin.

Zeitraum (h)	pH_i	Protonenverbrauch
0 - 2	7,375	0,213
2 - 6	7,343	0,226
6 - 12	7,286	0,248
12 - 24	7,019	0,379

Betrachtet man zunächst den gesamten Zeitraum von 0 bis 24 h Anaerobiose, so steht eine im Säure-Basen-Haushalt gefundene Menge von 7,13 mmol H^+/l Körperwasser einer durch die sauren Metabolite gelieferten Menge von 2,56 mmol H^+/l Körperwasser gegenüber (s. Tab. 22). Berücksichtigt man die H^+-Menge, die bei der Hydrolyse des Phospho-L-Arginin aufgenommen wurde, so reduziert sich die im Metabolismus gebildete Protonenmenge auf 0,17 mmol/l Körperwasser. Diese

Menge reicht bei weitem nicht aus, die gefundene Ansäuerung zu erklären.

In der Zeit von 0 bis 2 h Anaerobiose wurden den Änderungen im Säure-Basen-Haushalt zufolge 1,04 mmol H^+/l Körperwasser verbraucht. Im Energiestoffwechsel fand dagegen bereits eine Produktion von Protonen statt, die jedoch durch die Hydrolyse des Phospho-L-Arginin mehr als kompensiert wurde. Summarisch wurden im Stoffwechsel 0,28 mmol H^+/l Körperwasser aufgenommen. Dieser Verbrauch entsprach jedoch quantitativ nicht der gefundenen Alkalisierung.

Für den Zeitraum von 2 bis 6 h war im Säure-Basen-Haushalt eine Produktion von Protonen in Höhe von 0,65 mmol/l Körperwasser feststellbar. Im Energiestoffwechsel wurden jedoch in dieser Zeit kaum Protonen freigesetzt. Der Abbau von Phospho-L-Arginin erfolgte nur in sehr geringem Ausmaß. Insgesamt wurden im Metabolismus 0,02 mmol H^+/l Körperwasser aufgenommen.

In der Zeit von 6 - 12 h Anaerobiose stieg die Menge der im Säure-Basen-Haushalt gefundenen Protonen an. Durch den Energiestoffwechsel wurden jetzt ebenfalls Protonen geliefert. Allerdings steht eine Menge von 2,28 mmol H^+/l Körperwasser im Säure-Basen-Haushalt einer Menge von 0,22 mmol H^+/l Körperwasser aus dem Energiestoffwechsel gegenüber.

Für die Zeit von 12 bis 24 h Anaerobiose wurde im Säure-Basen-Haushalt mit 5,18 mmol/l Körperwasser der größte Teil der insgesamt gebildeten Protonen gefunden. Demgegenüber wurden vom Energiestoffwechsel insgesamt nur 0,34 mmol H^+/l Körperwasser geliefert. Die von den sauren Metaboliten stammende Protonenmenge betrug 0,99 mmol/l Körperwasser. Eine geringe Resynthese des Phospho-L-Arginins leistete hier sogar einen Beitrag zur Freisetzung von Protonen in Höhe von 0,29 mmol H^+/l Körperwasser. Diese Ansäuerung wurde jedoch bei abnehmendem pH_i durch die Protonenaufnahme des Phosphates ausgeglichen, das bis 24 h Anaerobiose aus dem Phospho-L-Arginin freigesetzt worden war.

Bei der Summierung der in den einzelnen Zeiträumen gefunde-

nen Änderungen bestätigte sich die oben durchgeführte Betrachtung für den gesamten Zeitraum von 0 bis 24 h Anaerobiose. Unter der Voraussetzung, daß das angewandte Modell Gültigkeit hat, reichen also die untersuchten Veränderungen im Energiestoffwechsel bei weitem nicht aus, um die gefundenen Änderungen im Säure-Basen-Haushalt zu erklären.

4. Diskussion

Das marine Sediment stellt besonders in der Gezeitenzone einen Lebensraum dar, in dem wechselnde Bedingungen der Sauerstoffversorgung biochemische und physiologische Anpassungen der Organismen erforderlich machen. Biochemische Anpassungsmechanismen beinhalten die Nutzung alternativer Möglichkeiten der Energiegewinnung, physiologische Mechanismen dienen dagegen in erster Linie einer ökonomischen Nutzung des vorhandenen Sauerstoffes. Veränderungen des Säure-Basen-Gleichgewichtes, die nach verbreiteter Auffassung auf die Akkumulation saurer Anaerobioseprodukte zurückzuführen sind, könnten dann als physiologische Anpassung aufgefaßt werden, wenn sie regulatorisch auf den Energiestoffwechsel zurückwirken.

Sipunculus nudus ist ein Vertreter der Infauna des marinen Sedimentes und ermöglicht aufgrund seiner einfachen Morphologie eine umfassende Bearbeitung der genannten biochemischen und physiologischen Anpassungsmechanismen. Die Analyse der Sauerstoffverwertung in experimentellen und simulierten natürlichen Situationen sowie die Betrachtung der wechselseitigen Abhängigkeit von Sauerstoffversorgung und anaerober Energiegewinnung erlaubt bei gleichzeitiger Berücksichtigung der Eigenschaften und der Funktion des Atempigmentes Haemerythrin ein tieferes Verständnis der Energiegewinnung dieses Tieres. Die Kenntnis von Charakteristika des Säure-Basen-Haushaltes wie z.B. den Puffereigenschaften der Coelomflüssigkeit und des Gewebes sowie die Kenntnis von Veränderungen der Parameter des Säure-Basen-Haushaltes in der Zelle und in der Körperflüssigkeit ermöglichen den Versuch, die Beziehungen zwischen Energie- und Säure-Basen-Haushalt quantitativ zu analysieren. Bei gleichzeitiger Betrachtung von Säure-Basen- und Energiehaushalt kann auch die Frage beantwortet werden, ob und unter welchen Bedingungen eine regulatorische Beeinflussung des Energiestoffwechsels durch Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt denkbar ist.

4.1. Der anaerobe Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus*

Nach Zebe et al. (1980) ist unter biotopbedingter Anaerobiose ein passives Überdauern von Sauerstoffmangelsituationen im Biotop zu verstehen. Bei funktionsbedingter Anaerobiose dagegen übersteigt der Energieverbrauch infolge starker Muskelaktivität die Kapazität der aeroben Energieproduktion.

Übereinstimmend mit Grieshaber und Hitzemann (1979) konnten bei *Sipunculus nudus* aufgrund von Veränderungen im stationären Metabolitgehalt folgende Stoffwechselsituationen nachgewiesen werden: Bei biotopbedingter Anaerobiose - die Tiere befinden sich im freien Wasser - tritt die Bildung von Succinat, Propionat und Acetat quantitativ in den Vordergrund, bei funktionsbedingter Anaerobiose wird dagegen vorwiegend Octopin als Produkt der anaeroben Glykolyse akkumuliert. Während der biotopbedingten Anaerobiose ist allerdings auch eine Octopinbildung zu verzeichnen, so daß diese Gärungsform bei *Sipunculus nudus* sowohl bei biotopbedingter als auch bei funktionsbedingter Anaerobiose zur Energiegewinnung beiträgt. Das Phosphorylierungspotential ist so groß, daß der Adenylatgehalt und der Energieinhalt in beiden Situationen keine wesentlichen Veränderungen zeigen.

4.1.1. Biotopbedingte Anaerobiose

(a) vergleichender Überblick

Vergleicht man die Veränderungen der Metabolitkonzentrationen im Hautmuskelschlauch, wie sie einmal unter 3.1. und zum anderen von Grieshaber und Hitzemann geschildert wurden, so traten bei biotopbedingter Anaerobiose folgende Unterschiede auf: In den ersten 12 h der Anaerobiose stieg die Succinatkonzentration in dem Experiment der genannten Autoren bereits auf durchschnittlich 1,1 µmol/g FG, während in den vorliegenden Untersuchungen nach dieser Zeit erst 0,67 µmol/g FG erreicht wurden. Erreichte die Succinatkonzentration im Hautmuskelschlauch nach Grieshaber und Hitzemann während 48 h einen Maximalwert von 1,9 µmol/g FG, so war sie in den vorliegenden Untersuchungen bereits wieder von 1,55 µmol/g FG nach 36 h

auf 1,3 µmol/g FG nach 48 h gefallen. Dem stärkeren Succinatanstieg entsprechend setzte nach Grieshaber und Hitzemann von 12 bis 24 h eine sehr viel intensivere Acetat- und Propionatproduktion ein als unter 3.1.1. geschildert. Wurden dort im Hautmuskelschlauch nach 24 h 1,9 µmol/g FG Acetat und 2,8 µmol/g FG Propionat gefunden, so stieg die Acetatkonzentration hier in dieser Zeit gar nicht, und die Propionatkonzentration stieg nur bis auf 1,1 µmol/g FG an. Nach 48 h lagen nach Grieshaber und Hitzemann 2,5 µmol/g FG Acetat und 6,5 µmol/g FG Propionat vor, während die entsprechenden Werte im vorliegenden Experiment nur 1,03 bzw. 1,37 µmol/g FG betrugen.

Übereinstimmend mit Grieshaber und Hitzemann kann festgestellt werden, daß die Propionatbildung unmittelbar zu Beginn der Anaerobiose einsetzt. Acetat wird in der Zeit zwischen 2 und 6 h sichtbar gebildet. Eine frühzeitige Nettoproduktion der Fettsäuren wurde von Schöttler (1982) auch für *Arenicola marina* beschrieben. *Mytilus edulis* dagegen beginnt erst nach einer lag-Phase von 17 h mit der Propionatsynthese (Kluytmans et al., 1977, 1978). Acetat wird bei *Mytilus* ohne lag-Phase bereits zu Beginn der Anaerobiose gebildet (Kluytmans et al., 1978).

Die Tiere häuften im Experiment von Grieshaber und Hitzemann bei biotopbedingter Anaerobiose insgesamt eine sehr viel größere Menge an Succinat, Acetat und Propionat an und schieden dementsprechend auch eine große Menge an flüchtigen Fettsäuren in das Inkubationswasser aus. Hier fanden sich nach 3 h bereits 0,3 µmol/g Körpergewicht Propionat bzw. 0,8 µmol/g Körpergewicht Acetat. Nach den vorliegenden Ergebnissen (s. Tab. 8, S. 77), fanden sich erst nach 12 bis 24 h vergleichbare Konzentrationen von Propionat und Acetat im Inkubationswasser.

Eine Nettoproduktion von Acetat ließ sich erst bei Betrachtung der ausgeschiedenen Menge bestätigen (s. Abb. 12, S. 80). Dabei wurde im Gegensatz zu Grieshaber und Hitzemann (1979) nach 24 h Anaerobiose keine weitere Anhäufung von Acetat gefunden, sondern im Vergleich zu den nach 12 h gemessenen Konzentrationen sogar eine gewisse Metabolisierung von Acetat um durchschnittlich 0,40 µmol/g FG. Dieser Schluß gründet sich auf die

Tatsache, daß von 12 bis 24 h die Konzentration im Gewebe geringfügig abnimmt und sich im Inkubationswasser nach 24 h weniger Acetat befindet als nach 12 h. Wie die Ergebnisse von Grieshaber und Hitzemann zeigen, ist diese Metabolisierung von Acetat nicht die Regel. Sie tritt wahrscheinlich auch nicht bei Tieren auf, die sich anaerob im Sand befinden (s. Abb. 55, S. 153). Hier stieg die Acetatkonzentration im Coelomplasma von 12 bis 24 h Anaerobiose weiter an. Nach 24 h wurden im Hautmuskelschlauch mit 1,52 ± 0,26 µmol/g FG höhere Konzentrationen erreicht als bei Anaerobiose im freien Wasser mit 0,60 ± 0,03 µmol/g FG.

Eine derartige Metabolisierung von Acetat nach längeren Zeiten der Anaerobiose wurde bisher selten beschrieben. Van der Horst (1974) fand sie im Fuß des Gastropoden *Cepaea nemoralis* (L.) und beschrieb nach 18 h Anaerobiose eine verstärkte Synthese von Lipiden. Hochachka (1980) weist ebenfalls auf eine solche Lipidbiosynthese (Kettenverlängerung) unter anaeroben Bedingungen hin. Eine Funktion könnte ihr im Rahmen einer Redoxbalance zukommen. Succinat scheint eine stimulierende Wirkung auf eine derartige Lipidbiosynthese zu haben (Whereat, 1967). Eine Biosynthese von Fettsäuren könnte auch im Zusammenhang mit einer an Mollusken erarbeiteten „anoxen endogenen Oxidation" in Cytosomen stehen (Zs.-Nagy und Ermini, 1972; Zs.-Nagy, 1974, 1977). Trotz vorliegender elektronenmikroskopischer Untersuchungen der Muskulatur bei *Sipunculus nudus* wurde über die Existenz solcher Cytosomen bisher nichts berichtet (s. de Eguileor und Valvassori, 1977). Es wäre jedoch denkbar, daß solche Cytosomen im Nervengewebe existieren (vergl. Holwerda et al., 1981b). Eine experimentelle Bearbeitung dieses Problems steht bei *Sipunculus nudus* noch aus.

Betrachtet man das Verhalten des Phosphagens bei biotopbedingter Anaerobiose, so fällt zunächst auf, daß in den vorliegenden Experimenten der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin unter aeroben Verhältnissen mit durchschnittlich 5,09 sehr viel höher lag als in dem Experiment von Grieshaber und Hitzemann mit 2,19. Der Gehalt an Phospho-L-

Arginin fiel nach Grieshaber und Hitzemann, ausgehend von 28,7 µmol/g FG (gegenüber 34,5 µmol/g FG, s. Tab. 6, S. 72), innerhalb von 3 h Anaerobiose auf 23,0 µmol/g FG. Insgesamt wurden also 14,2 µmol/g FG Phospho-L-Arginin umgesetzt. Laut Tab. 6 (S. 72) fiel der Gehalt an Phosphagen im Hautmuskelschlauch bereits innerhalb der ersten 12 h der Anaerobiose um 14,1 µmol/g FG ab. Anschließend wurden bis 48 h sogar durchschnittlich 2,7 µmol/g FG resynthetisiert. Dem Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin zufolge trat jedoch von 12 bis 48 h Anaerobiose keine Änderung mehr auf. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Grieshaber und Hitzemann wurde in den vorliegenden Untersuchungen der Energiebedarf der Tiere also nach 12 h vollkommen durch den Energiestoffwechsel und nicht mehr durch das Phosphagen gedeckt. Das Phosphagen trägt nur in den ersten Stunden der Anaerobiose zum Energieumsatz bei. Dies stimmt mit den von Schöttler (1982) an *Arenicola marina* und Nereiden sowie von Ebberink und de Zwaan (1980) und Zurburg und Ebberink (1981) an *Mytilus edulis* erhobenen Befunden überein.

Neben dem Abbau des Phosphagens trägt in den ersten Stunden der Anaerobiose auch eine Akkumulation von Octopin zur Dekkung des Energiebedarfs bei. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von de Zwaan und Zurburg (1981), die bei *Mytilus edulis* während der ersten Stunden der Anaerobiose eine Akkumulation von Strombin fanden, das wie Octopin Endprodukt der anaeroben Glykolyse ist. Laut Abb. 10, S. 69, ist auch in einer späteren Phase der Anaerobiose noch eine Bildung von Octopin möglich. Im Vergleich mit den Ergebnissen von Grieshaber und Hitzemann (1979) sowie Grieshaber und Zebe (1978) wurden jedoch nur geringe Octopinkonzentrationen erreicht (1,1 gegenüber 2,8 bzw. 10 µmol/g FG). Dies läßt vermuten, daß der Beitrag der Octopinbildung zur Energiegewinnung abhängig vom Energiebedarf ist.

Insgesamt kann also auch die anaerobe Glykolyse(mit der reduktiven Umsetzung von Pyruvat) während einer biotopbedingten An-

aerobiose eine Rolle spielen, eine Tatsache, die generell bei Vertebraten zutrifft, wo die Succinatgärung in der gesamten Zeit der Anaerobiose nur eine geringe quantitative Bedeutung bei der Energiegewinnung hat (Hochachka et al., 1975; Hochachka und Somero, 1976; van den Thillart, 1982). Ein extremes Beispiel, das die Bedeutung der anaeroben Glykolyse für die biotopbedingte Anaerobiose bei Vertebraten besonders herausstellt, ist die Schildkröte *Chrysemys picta bellii*, die nach monatelanger Anaerobiose bei 3 °C (Winterschlaf im Wasser) Laktatkonzentrationen von über 200 mmol/l im Plasma aufweist (Ultsch und Jackson, 1982).

Die mit 28,7 gegenüber 34,5 µmol/g FG niedrigere Ausgangskonzentration des Phospho-L-Arginins im Hautmuskelschlauch, die in den Experimenten von Grieshaber und Hitzemann auch mit einem kleineren Verhältnis der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin (2,19 gegenüber 5,06, s.o.) verbunden war, muß jedoch nicht bedeuten, daß die Tiere bereits energetisch beansprucht waren, bevor sie von den Autoren im Versuch eingesetzt wurden. Vielmehr scheint es, als ob erholte Exemplare von *Sipunculus nudus* mit unterschiedlicher Vorgeschichte verschiedene Phosphagenkonzentrationen und damit verbunden auch unterschiedliche Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin besitzen können (s. auch 4.1.3., S. 285, über den Phosphagengehalt und den Quotienten [PLA]/[L-Arg] im Vergleich verschiedener Gewebe). Bei weiteren Experimenten fanden sich nämlich im Hautmuskelschlauch noch weitaus höhere Phosphagenkonzentrationen von 52,0 µmol/g FG verbunden mit einem Quotienten von 7,47 (s. Tab. 18, S. 134). Diese Tiere waren längere Zeit unter aeroben Ruhebedingungen im Aquarium gehältert worden. Sie waren also lange nicht mehr der Beanspruchung wechselnder Gezeiten im Biotop ausgesetzt.

Auch in den Retraktoren fand anscheinend im Zusammenhang mit der Hälterung eine Anhebung des Gehaltes an Phospho-L-Arginin verbunden mit einer Erhöhung des Quotienten [Phospho-L-Arginin]/[L-Arginin] statt. Der Anstieg der Phosphagenkonzentration erfolgte während einer einmonatigen Hälterung in Münster von

12,3 ± 1,5 µmol/g FG auf 20,4 ± 2,3 µmol/g FG. Der genannte Quotient stieg in dieser Zeit von 1,25 ± 0,14 auf 3,57 ± 1,08.

Die Tiere sind also in der Lage, während längerer aerober Ruhepausen den Phosphagengehalt ständig zu erhöhen und somit den Speicher energiereichen Phosphates über längere Zeit kontinuierlich aufzufüllen. Dies scheint für *Sipunculus nudus* besonders sinnvoll, da die Art in einem Bereich der Gezeitenzone lebt, in dem sie nur monatlich zur Zeit der Springtide längeren Zeiten des Niedrigwassers ausgesetzt ist. Limitierend für die Erhöhung des Phosphagengehaltes könnte die Bereitstellung von L-Arginin und anorganischem Phosphat sowie die osmotische Belastung der Zelle sein.

Zumindest für die Retraktoren läßt sich auch ein Einfluß langer Aerobiose auf die Adenylate vermuten. Die in Tab. 5, S. 70, angegebenen Konzentrationen von ATP, ADP und AMP betrugen unter aeroben Bedingungen durchschnittlich 2,64; 0,35 und 0,07 µmol/g FG bei einem Gesamtadenylatgehalt von 3,06 µmol/g FG und einem Energieinhalt von 0,92. Kreutzer (1982) gab für ATP, ADP und AMP Konzentrationen um 5,15; 0,51 bzw. 0,08 µmol/g FG an. Der Gesamtadenylatgehalt betrug 5,73 µmol/g FG, und der Energieinhalt lag bei 0,94. Hier hatte die aerobe Ruhe im Hälterungsbecken also auch zu einer Auffüllung der energiereichen Phosphate im Adenylatsystem geführt. Der Energieinhalt war jedoch in beiden Fällen nahezu gleich. Eine ähnliche Steigerung des Adenylatgehaltes konnte im Hautmuskelschlauch bei langer Aerobiose nicht gefunden werden.

Mit *Sipunculus nudus* vergleichbare andere fakultative Anaerobier der Gezeitenzone besitzen in der Muskulatur unterschiedliche Phosphagenkonzentrationen. *Arenicola marina* verfügt beispielsweise im Hautmuskelschlauch über 8,9 µmol/g FG (Pörtner et al., 1979), *Mytilus edulis* im hinteren Adduktor über ca. 3,8 bzw. 9 µmol/g FG (Zurburg und Ebberink, 1981; Ebberink et al., 1979), *Cardium edule* im Fußmuskel über ca. 10 µmol/g FG (Meinardus und Gäde, 1981), *Cardium tuberculatum* im Fußmuskel über ca. 24 µmol/g FG (Gäde, 1980b), *Scrobicularia plana* im Weichkörper über 5,8 µmol/g FG (Brinkhoff, 1981) und *Patella*

vulgata im Weichkörper über 7,1 µmol/g FG (Stöckmann, 1980). Hierbei handelt es sich in der Regel um sessile Tiere, die eine relativ geringe Mobilität aufweisen. Eine Ausnahme bildet lediglich *Cardium tuberculatum*, die mit ihrem Fußmuskel kräftige Sprungbewegungen ausführen kann und dementsprechend mehr Phosphagen besitzt als die anderen genannten Arten.

Nach längerer Aerobiose besitzt *Sipunculus nudus* im Hautmuskelschlauch einen Phosphagengehalt, der mit 52,1 µmol/g FG auch höher liegt als bei vielen Arten der verschiedensten Stämme, die von Beis und Newsholme (1975) untersucht wurden. Lediglich *Pecten maximus* zeigt diesen Autoren zufolge im phasischen Teil des Schließmuskels mit 52,16 µmol/g FG einen ebenso hohen Phosphagengehalt (vergl. auch Newsholme et al., 1978a). Gäde et al. (1978) gaben für den gesamten Schließmuskel eine Konzentration von 25,8 µmol/g FG an. Bei anderen Pecteniden wurden 20,4 µmol/g FG (*Chlamys opercularis*, Grieshaber, 1978) und 12,6 µmol/g FG (*Pecten jacobaeus*, Grieshaber und Gäde, 1977) gefunden. Baldwin und Opie (1978) sowie Livingstone et al. (1981) trennten den Schließmuskel von *Pecten alba* bzw. *Placopecten magellanicus* in den phasischen und den tonischen Teil auf. Dabei ergaben sich im phasischen Teil 28,2 µmol/g FG (*P.a.*) bzw. 31,4 µmol/g FG (*P.m.*) und im tonischen Teil 3,8 µmol/g FG (*P.a.*) bzw. 5,6 µmol/g FG (*P.m.*). Hier zeigt sich ein Unterschied im Phosphagengehalt entsprechend einer unterschiedlichen Funktion der beiden Muskelpartien. Der schnell und kurzfristig arbeitende phasische Muskel besitzt einen höheren Phosphagengehalt als der langsam arbeitende und zu langfristigem Sperrtonus befähigte tonische Muskel. Hohe Phosphagenkonzentrationen sind auch für die Cephalopoden charakteristisch, die zu schnellen Aktivitätsausbrüchen befähigt sind. Grieshaber und Gäde (1976) fanden bei *Loligo vulgaris* ca. 35 µmol/g FG (errechnet aus einer Angabe in µmol/g Trockengewicht unter Annahme eines Wassergehaltes von 80 %). Eine ähnlich hohe Konzentration fanden Storey und Storey (1979b) bei *Sepia officinalis*. Damit ist *Sipunculus nudus* aufgrund des hohen Phosphagengehaltes in die Reihe derjenigen Tiere einzuordnen, deren Kapazität zu anaerober Muskelaktivität sehr groß ist.

Dem hohen Phosphagengehalt entsprechend ist auch die Argininkinase in hohen Konzentrationen vorhanden. Sie liegt im Hautmuskelschlauch mit 436,7 U/g FG bzw. in den Retraktoren mit 687,2 U/g FG höher als im tonischen Teil (ca. 140 U/g FG) und fast ebenso hoch wie im phasischen Teil des Schließmuskels von Pecteniden (ca. 900 U/g FG, Zammit und Newsholme, 1976), allerdings deutlich niedriger als im Schwanzmuskel von Crustaceen, wo sie eine Konzentration von 1750 (*Homarus vulgaris*), 1620 (*Galathea squamifera*) oder sogar über 3000 U/g FG (*Crangon crangon*) erreichen kann (Zammit und Newsholme, 1976; Onnen, pers. Mittlg.).

Der hohe Phosphagengehalt dient auch bei biotopbedingter Anaerobiose als Puffer für die Aufrechterhaltung der ATP-Konzentration und im Zusammenwirken mit Adenylatkinase und AMP-Desaminase der Aufrechterhaltung des Energieinhaltes. Die Ergebnisse zeigen, daß der Energieinhalt des Hautmuskelschlauches von einer 48-stündigen Anaerobiose nicht betroffen wird. Dies gilt mit Einschränkung auch für die Retraktoren, für die eine geringe Abnahme des Energieinhaltes gefunden wurde. Bei *Mytilus edulis* (Wijsman, 1976b), *Arenicola marina* (Surholt, 1977; Pörtner et al., 1979; Schöttler, 1982), Nereiden (Schöttler, 1979), *Tubifex tubifex* (Schöttler, 1978a), *Patella vulgata* (Stöckmann, 1980) und *Scrobicularia plana* (Brinckhoff, 1981) fiel der Energieinhalt im Gewebe dagegen während der Anaerobiose deutlich ab. Eine geringe Beeinflussung des Energieinhaltes durch die Anaerobiose fand Gäde (1980b) bei *Cardium tuberculatum*.

Vergleicht man den Phosphagengehalt der genannten Tiere, so fällt auf, daß der Energieinhalt besonders bei den Tieren beansprucht wird, für die ein vergleichsweise geringer Phosphagengehalt festgestellt wurde. Bei diesen Tieren erfolgt in den ersten Stunden der Anaerobiose ein Abfall des Energieinhaltes, also in der Zeit, in der auch der größte Teil des Phosphagens umgesetzt wird. Es liegt nahe zu vermuten, daß ein hoher Phosphagengehalt eine Abnahme des Energieinhaltes besser verhindern kann als ein niedriger. Der hohe Phosphagengehalt im

Hautmuskelschlauch des *Sipunculus nudus* ist also wahrscheinlich die Ursache dafür, daß der Energieinhalt in diesem Gewebe während der Anaerobiose konstant bleibt. Die Retraktoren zeigen dagegen aufgrund des geringeren Gehaltes an Phospho-L-Arginin eine etwas stärkere Beanspruchung des Energieinhaltes als der Hautmuskelschlauch (s. Abb. 10, S. 69).

Natürlich spielt nicht nur der Phosphagengehalt bei der Aufrechterhaltung des Energieinhaltes eine Rolle, sondern auch die Umsatzrate des Energiestoffwechsels, der ebenfalls zur Resynthese verbrauchten ATPs führt. Der Energiebedarf bzw. der ATP-Verbrauch hängt unter anderem von der Situation ab, in der das Tier sich befindet. Nach den bisherigen Erörterungen gehören Anaerobiose im freien Wasser und intensive Muskelarbeit nicht zu den Situationen, die bei *Sipunculus nudus* zu einer Beanspruchung des Energieinhaltes im Hautmuskelschlauch führen. Eine deutlichere Abnahme des Energieinhaltes wurde bei der experimentellen Simulation von Niedrigwasser gefunden (s. Abb. 54, S. 151).

Grieshaber und Hitzemann (1979) fanden insgesamt während der Anaerobiose eine sehr viel größere Menge an akkumulierten Stoffwechselendprodukten als unter 3.1.1. geschildert wurde. Ein quantitativer Vergleich der Daten ist jedoch nicht möglich, da die Autoren die in die Coelomflüssigkeit ausgeschiedenen Metabolite nicht bestimmt hatten. Diese nimmt immerhin 52 % des gesamten Körpergewichtes von *Sipunculus nudus* ein. Im vorliegenden Experiment wurden während 24 h Anaerobiose im Coelomplasma mit 0,92 ± 0,12 µmol/ml Plasma Propionat fast ebenso hohe Konzentrationen erreicht wie im Hautmuskelschlauch mit 1,10 ± 0,06 µmol/g FG.

Das unterschiedliche Ausmaß der Succinatgärung könnte auf unterschiedliche Versuchsbedingungen zurückzuführen sein. Nach Grieshaber (pers. Mittlg.) wurden die Versuchsgefäße während der anaeroben Inkubation nicht verdunkelt, so daß die lichtempfindlichen Tiere sich während des Experimentes vielleicht nicht im absoluten Ruhezustand befanden. Dafür spricht zwar eine fortgesetzte Beanspruchung des Phospho-L-Arginins in der

Zeit von 12 bis 48 h Anaerobiose und eine hohe Octopinkonzentration nach 48 h Anaerobiose (2,8 gegenüber 0,9 µmol/g FG im vorliegenden Experiment), dagegen allerdings eine geringfügigere Abnahme der Konzentration des Phospho-L-Arginins in den ersten 12 h von nur 6,2 µmol/g FG (gegenüber 14,2 µmol/g FG).

Allerdings ist offensichtlich, daß in den Experimenten von Grieshaber und Hitzemann aufgrund der niedrigeren Ausgangskonzentration des Phosphagens eine geringere Menge an Phosphagen umgesetzt wurde. Bei gleichem Energiebedarf scheint dann eine höhere Umsatzrate im Energiestoffwechsel zwingend. Zurburg und Ebberink (1981) beobachteten am hinteren Adduktor von *Mytilus edulis* ebenfalls, daß der Umfang der Succinatgärung abnimmt, wenn der Phosphagenspiegel und damit auch der Phosphagenumsatz bei Anaerobiose höher ist.

Ein jahreszeitlicher Einfluß auf die Stoffwechselrate ist ebenfalls nicht ganz auszuschließen. Die von Grieshaber und Hitzemann verwandten Tiere wurden im August/September 1978 gesammelt und im Versuch eingesetzt. Für die vorliegenden Untersuchungen wurden dagegen Tiere verwandt, die im Juni/Juli gegraben worden waren. Eberhardt (1982) fand für *Arenicola marina* einen jahreszeitlichen Unterschied in der Stoffwechselrate. Kluytmans et al. (1980) fanden für *Mytilus edulis* eine jahreszeitliche Abhängigkeit des anaeroben Energiestoffwechsels, die in Zusammenhang mit der Fortpflanzungszeit stehen soll. Demnach spielt die Propionatgärung nur von April bis Oktober eine Rolle, einer Zeit, in der der Energiebedarf besonders groß ist. Für *Sipunculus nudus* werden sehr unterschiedliche Zeiten für die Abgabe von Geschlechtsprodukten angegeben. Sie reichen von April/Mai (Metalnikoff, 1900) bis August (Hatschek, 1884, zit. nach Hyman, 1959). In diesem Zusammenhang könnte von Bedeutung sein, daß die Coelomflüssigkeit von Tieren, die im Frühjahr 1981 gegraben und im Experiment eingesetzt worden waren, eventuell aufgrund von vorhandenen Geschlechtsprodukten einen offensichtlich höheren Zellanteil zeigte als bei Tieren, die aus der zweiten Jahreshälfte stammten. Hinzu kommt, daß bei den früh im Jahr gegrabenen Tieren während 24 h Anaerobiose im freien Wasser in der

Coelomflüssigkeit 2,15 µmol/ml Plasma Propionat angehäuft wurden (s. Abb. 57, S.159). Die genannte Konzentration liegt deutlich höher als die in Abb. 11, S. 76, und Abb. 56, S.157, aufgetragenen Konzentrationen von 0,92 bzw. 0.63 µmol/ml Plasma, die an spät im Jahr gesammelten Tieren unter den gleichen Bedingungen gefunden wurden. Dieser Vergleich läßt auch für *Sipunculus nudus* eine Abhängigkeit der Stoffwechselrate von der Jahreszeit vermuten.

Gegenüber Grieshaber und Hitzemann wurde das Spektrum der bei biotopbedingter Anaerobiose untersuchten Metabolite um Malat, Aspartat, D- und L-Alanin erweitert. Während die gefundenen Alaninkonzentrationen keine eindeutigen Aussagen erlauben, zeigen Aspartat und Malat Konzentrationsänderungen, die den Beobachtungen an anderen Anaerobiern entsprechen (de Zwaan, 1977; Schöttler, 1980, 1982). Demzufolge dient Aspartat auch bei *Sipunculus nudus* als Substrat des anaeroben Energiestoffwechsels. Ein anderes Substrat außer Aspartat und Glykogen konnte bei marinen Invertebraten bisher nicht nachgewiesen werden (Felbeck, 1980; Zandee et al., 1980). Befunde von Siegmund (1982) schließen allerdings nicht aus, daß auch Glutamin bei Anaerobiose eine Funktion als Substrat haben könnte.

Der Umsatz von Aspartat ist nach 6 h weitgehend abgeschlossen. Malat als wichtiges Intermediärprodukt müßte nach verbreiteter Auffassung anschließend wie auch bei anderen fakultativen Anaerobiern über eine Carboxylierungsreaktion geliefert werden (Zebe et al., 1980; Schöttler, 1980; de Zwaan, 1977).

Konzentrationsänderungen des Malates wurden bereits von Livingstone und Bayne (1977) sowie Bayne et al. (1976) für den PAM (posterior adductor muscle) von *Mytilus edulis* bzw. *californianus* beschrieben. Bei *Sipunculus nudus* nimmt der Malatgehalt mit einsetzender Anaerobiose sprunghaft zu und zeigt damit eine drastische Änderung der metabolischen Position des Malates an. Eine weitergehende Aussage ist nach Newsholme und Start (1973) nicht möglich. Dem in den letzten Jahren erarbeiteten Stoffwechselbild zufolge stammt die von 0 bis 2 h

Anaerobiose angehäufte Malatmenge sicherlich aus dem Aspartat (s. Abb. 1, S. 7). Bis 6 h Anaerobiose fällt die Malatkonzentration wieder etwas ab. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, daß die Nachlieferung von Malat aus dem Aspartat nach 6 h zum Stillstand kommt. Nach gängiger Auffassung erfolgt während langfristiger Anaerobiose eine Umschaltung auf die Carboxylierungsreaktion. Der für den Zeitraum von 6-12 h Anaerobiose beschriebene erneute Anstieg der Malatkonzentration könnte eine Folge der abgeschlossenen Umschaltung und eines neuen Stoffwechselflusses sein. Während 48 h Anaerobiose fällt die Malatkonzentration bei *Sipunculus nudus* wieder kontinuierlich bis in die Nähe des Ausgangsgehaltes ab. Letzteres wurde von Bayne et al. (1976) sowie Livingstone und Bayne (1977) auch für *Mytilus* beschrieben.

Bei langfristiger Inkubation unter verschiedenen O_2-Partialdrucken wurde in Abhängigkeit vom P_{O_2} eine Abnahme des Malatgehaltes nach vorübergehender Zunahme beobachtet (s. Abb. 17, S. 99). Die Abnahme könnte Folge einer unter O_2-Mangel stattfindenden drastischen Reduktion der Stoffwechselrate sein. Eine derartige Reduktion der Stoffwechselrate kann für *Sipunculus nudus* bei biotopbedingter Anaerobiose aufgrund der unter 4.1.1. (b) erörterten Stoffwechselbilanz bestätigt werden. Sie wurde von de Zwaan und Wijsman (1976) auch für *Mytilus edulis* berechnet und von Shick et al. (1982) kalorimetrisch nachgewiesen.

Aufgrund der beobachteten Veränderungen im Metabolitgehalt gleicht der Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus* bei biotopbedingter Anaerobiose dem Energiestoffwechsel anderer fakultativer Anaerobier (Zebe, 1977; de Zwaan, 1977; Schöttler, 1980; Schöttler, 1982). Eine auffällige Diskrepanz zeigt sich bei der enzymatischen Ausstattung des Muskelgewebes, soweit sie für *Sipunculus* untersucht wurde. Alle untersuchten Gewebe verfügen nur über einen (kaum nachweisbaren) geringen Gehalt an Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (< 0,5 U/g FG), dafür jedoch über ein „Malat-Enzym", dessen Aktivität in der Carboxylierungsrichtung im Hautmuskelschlauch mit durchschnittlich

0,49 U/g FG bzw. in den Retraktoren mit 0,26 U/g FG deutlich höher liegt (s. Tab. 12, S. 89). Es gibt nur wenige andere Beispiele unter den fakultativen Anaerobiern, bei denen kaum Phosphoenolpyruvat-Carboxykinaseaktivität nachgewiesen werden konnte. Hierzu gehören die Auster *Crassostrea gigas*, deren Herz nur einen geringen Gehalt an Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase besitzt (Fields, 1976; nach Collicutt und Hochachka, 1977), und die Pecteniden, deren Adduktoren ebenfalls kaum Phosphoenolpyruvat-Carboxykinaseaktivität aufweisen (de Zwaan et al., 1980; Zammit und Newsholme, 1976). Leider liegen für die genannten Organismen bzw. Gewebe keine Untersuchungen über langfristige Anaerobiose vor. Collicutt und Hochachka (1977) untersuchten den Energiestoffwechsel des Austernherzens über maximal 4 h Anaerobiose und fanden eine Succinatbildung, die quantitativ mit einem Abbau von Aspartat gekoppelt war. Die Alaninbildung zeigte keinen Zusammenhang mit dem Abbau von Aspartat, sondern ging quantitativ darüber hinaus. De Zwaan et al. (1980) untersuchten den Energiestoffwechsel der Adduktoren von *Placopecten magellanicus in vivo* bei für 90 min geschlossenen Schalen. Sie fanden in den tonischen Adduktoren übereinstimmend mit den Ergebnissen von Collicutt und Hochachka eine Anhäufung von Succinat, einen Abbau von Aspartat und eine darüber hinausgehende Bildung von Alanin. Interessanterweise ist bei geschlossenen Schalen eine Abnahme der Ammoniakkonzentration festzustellen. Es liegen jedoch noch keine Untersuchungen vor, ob diese Abnahme im Zusammenhang mit der Alaninbildung stehen könnte (vergl. de Zwaan und v. Marrewijk, 1973a, Livingstone et al., 1979). Ein biologischer Sinn läge in der Entgiftung des bei Anaerobiose gebildeten Ammoniaks (Bayne et al., 1976, bei *M. californianus*). Eine solche Funktion könnte damit im Einklang stehen, daß nach Anaerobiose eine verstärkte Ammoniakausscheidung festzustellen ist (de Vooys und de Zwaan, 1978, an *Mytilus edulis*). Diese Ausscheidung könnte die Folge der Metabolisierung angehäuften Alanins sein.

Collicutt und Hochachka (1977) sowie Hochachka (1980) schlossen aus ihren Ergebnissen auf einen anaeroben Energiestoffwechsel,

bei dem im Gegensatz zu anderen Anaerobiern keine Carboxylierungsreaktion beteiligt ist. De Zwaan et al. (1980) sahen eine Übereinstimmung mit dem Energiestoffwechsel von *Mytilus edulis* in den ersten Stunden der Anaerobiose. Da in beiden Fällen nur kurze Zeiten der Anaerobiose untersucht wurden, ist ein so weitgehender Schluß, wie er von Hochachka gezogen wurde, nicht möglich. Allerdings fanden de Zwaan et al. (1982) am hinteren Adduktor von *Mytilus edulis*, daß der Aspartatabbau während 18 h Anaerobiose die Bildung fast sämtlicher anaerober Endprodukte erklärt. Aspartat liefert auch das C-Skelett für das neugebildete Alanin, eine Tatsache, die durch decarboxylierende Aktivität des „Malat-Enzyms" erklärbar scheint. Die Bildung von Alanin aus dem C-Gerüst des Aspartates wurde von Zebe (1975) auch bei *Arenicola marina* gefunden. Die Befunde von de Zwaan et al. haben jedoch vorerst nur für die Winterperiode Gültigkeit.

Für *Sipunculus nudus* kann im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen festgestellt werden, daß in den ersten 6 h der Anaerobiose eine Metabolisierung von Aspartat stattfindet, daß aber anschließend auch bei geringer oder nicht vorhandener Phosphoenolpyruvat-Carboxykinaseaktivität eine Carboxylierung möglich sein muß, wenn Glykogen bei fortgeschrittener Anaerobiose das alleinige Substrat des Energiestoffwechsels darstellt. Anstelle von Phosphoenolpyruvat müßte also extramitochondrial auch Pyruvat durch die Reaktion des „Malat-Enzyms" carboxylierbar sein. Diese Auffassung wird bisher nur durch die *in-vitro*-Analyse der Enzymaktivitäten gestützt und steht im Gegensatz zu der überwiegend verbreiteten Meinung, daß nur die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase an der Carboxylierungsreaktion beteiligt ist (Simpson und Awapara, 1966; Hochachka und Mustafa, 1972; Hochachka et al., 1973; Zebe, 1977; de Zwaan, 1977; Hoffmann et al., 1979; Zebe et al., 1980; Schöttler und Wienhausen, 1981).

Eine Carboxylierung von Pyruvat zu Malat wurde auch von Hammen (1966, 1969b) für die Auster *Crassostrea virginica* vorgeschlagen. Eine solche Beteiligung des „Malat-Enzyms" konnte generell bisher noch nicht widerlegt werden. In relativ ein-

deutigen Fällen überwiegt allerdings die Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase stark über die des „Malat-Enzyms" (s. de Zwaan und van Marrewijk, 1973b, bei *Mytilus edulis*). Wenn *Sipunculus nudus* neben dem „Malat-Enzym" auch Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase besitzen sollte, so liegt hier das „Malat-Enzym" im Gegensatz zu *Mytilus* in der Carboxylierungsrichtung doch in sehr viel höherer Aktivität vor als die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase.

Untersuchungen des „Malat-Enzyms" *in vitro*, wie sie von Hochachka und Mustafa (1973) bei *Crassostrea gigas* und von Hoffmann et al. (1979) an *Tubifex* durchgeführt wurden, sprechen gegen eine Beteiligung des „Malat-Enzyms" an der Carboxylierungsreaktion. Das „Malat-Enzym" fakultativer Anaerobier, die keine oder extrem wenig Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase besitzen, wurde jedoch bisher noch nicht *in vitro* untersucht.

In diesem Zusammenhang erscheinen jüngere Untersuchungen interessant, in denen Unterschiede in den Eigenschaften von mitochondrialem und extramitochondrialem „Malat-Enzym" erarbeitet wurden (Swierczynski, 1980; Swierczynski et al., 1980a, b). Diese Untersuchungen wurden am Skelettmuskel der Ratte bzw. am Schwanzmuskel von *Orconectes limosus* durchgeführt, sind also nicht unbedingt auf marine Invertebraten übertragbar. In diesen Arbeiten wird eine unterschiedliche anaplerotische Funktion der beiden „Malat-Enzyme" für den Citratcyclus diskutiert, basierend auf der Tatsache, daß das extramitochondriale Enzym in sehr viel höherem Ausmaß in der Lage ist, Pyruvat zu carboxylieren als das intramitochondriale Enzym. In Gegenwart hoher Bicarbonatkonzentrationen kann die Carboxylierungsreaktion eine Umsatzrate in Höhe von 80 % der Decarboxylierungsreaktion erreichen. Cytosolisch gebildetes Malat liefert in den Mitochondrien durch die Fumarasereaktion Oxalacetat sowie mit Hilfe von „Malat-Enzym" und Pyruvatdehydrogenase Acetyl-CoA für die Kondensation zu Citrat. Die Unterschiede in den pH-Optima zwischen Carboxylierungs- und Decarboxylierungsreaktion des extramitochondrialen Enzyms sind im Bereich der intrazellulär vorliegenden Malatkonzentration (max. 1 mmol/l) gering (Swierczynski, 1980).

Aus dem Gesagten folgt, daß das „Malat-Enzym" in der Carboxylierungsreaktion auch in den Geweben von biologischer Bedeutung sein kann, die keiner biotopbedingten Anaerobiose unterliegen. Dies macht in der vergleichenden Betrachtung wahrscheinlicher, daß Systeme existieren können, in denen bei biotopbedingter Anaerobiose eine Carboxylierung von Pyruvat statt Phosphoenolpyruvat stattfindet. Eine Differenzierung zwischen intra- und extramitochondrialem „Malat-Enzym" würde diese Hypothese unterstützen.

Trotz der geringen, kaum nachgewiesenen Phosphoenolpyruvat-Carboxykinaseaktivität kann eine Funktion dieses Enzymes jedoch nicht ausgeschlossen werden. Weitere Untersuchungen zu diesem Aspekt des Energiestoffwechsels wären wünschenswert.

Im Austernherz und im tonischen Teil des Adductors von *Placopecten magellanicus* wurde, wie oben erwähnt, eine Alaninproduktion gefunden, die quantitativ über die Metabolisierung von Aspartat hinausgeht. Es handelt sich um eine weit verbreitete Erscheinung, über die z. B. auch von Felbeck (1980) bei *Arenicola marina* berichtet wurde. Diese Untersuchung machte jedoch auch wahrscheinlich, daß die Metabolisierung von Aspartat mit der Akkumulation von Alanin gekoppelt ist. Die Quelle der Aminogruppe darüber hinaus akkumulierten Alanins ist noch unbekannt (s.o.).

De Zwaan (1977) beschrieb für *Mytilus edulis* unterschiedliche Produktionsraten von Alanin, die jedoch ebenfalls in die ersten Stunden der Anaerobiose fielen und die unabhängig von der Abbaurate des Aspartates waren (Kluytmans et al., 1977). Kluytmans et al. (1980) konnten jahreszeitliche Unterschiede in der Produktion von Alanin nachweisen.

Schöttler (1978b) fand für *Nereis diversicolor* eine direkte Korrelation zwischen Aspartatabbau und Alaninzunahme. Dies ließ sich jedoch für andere Nereiden nicht bestätigen (Schöttler, 1979). Eine direkte Korrelation beobachteten auch Ellington (1981) für das Herz von *Busycon contrarium* sowie de Zwaan et al. (1982) am hinteren Adduktor von *Mytilus edulis* im Win-

ter. Die Annahme, daß bei *Sipunculus nudus* ebenfalls eine quantitative Korrelation vorliegt, beruht auf stark streuenden experimentellen Daten und bedarf sicherlich weiterer experimenteller Bestätigung, wird aber aufgrund der hier vorgenommenen Erörterung für eine Stoffwechselbilanz zugrunde gelegt.

(b) Stoffwechselbilanz

Für die Untersuchungen zur biotopbedingten Anaerobiose wurden Aspartat, Alanin, Malat, Succinat, Propionat, Acetat und Octopin als Schlüsselsubstanzen des Anaerobiosestoffwechsels in der Annahme ausgewählt, daß damit auch die quantitativ wesentlichsten Endprodukte der anaeroben Glykogenolyse erfaßt sind. Diese Vermutung beruht auf Untersuchungen über den Glykogenabbau anderer fakultativer Anaerobier wie *Mytilus edulis* (de Zwaan und Wijsman, 1976) oder *Tubifex tubifex* (Schöttler und Schroff, 1976). Aspartat stellt neben Glykogen ein Substrat, Malat und Succinat stellen Intermediärprodukte und Alanin, Propionat, Acetat und Octopin Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels dar (Felbeck, 1980; Zebe et al., 1980; Schöttler, 1980). Möglicherweise ist die Einordnung von Acetat als Endprodukt nur mit Einschränkungen gültig, da eine anaerobe Lipidsynthese stattfinden könnte (s. 4.1.1.a, S. 206, van der Horst, 1974).

Kalorimetrische Messungen an anderen Anaerobiern wie *Mytilus edulis* (Shick et al., 1982) deckten eine Diskrepanz zwischen gemessener und erwarteter Wärmeproduktion auf. Eine solche Diskrepanz kann auch für *Sipunculus nudus* nicht ausgeschlossen werden. Sie ist jedoch nicht unbedingt durch einen unbekannten Stoffwechsel bedingt (s. Shick et al., 1982) und wird daher bei den folgenden Betrachtungen unberücksichtigt bleiben. Ebenso wurde eine „anoxe endogene Oxidation" nach Zs.-Nagy (1977) außer Betracht gelassen. Sie könnte durch Umsetzung von Acetyl-CoA bzw. Acetat aus der Glykogenolyse das Bild verändern und vielleicht die gesamte oder einen Teil der überschüssigen Wärmeproduktion erklären (Shick et al., 1982).

Die Konzentrationsänderungen der genannten Metabolite

könnten also ein mehr oder weniger quantitatives Bild vom Stoffumsatz in der anaeroben Glykogenolyse geben, wenn keine weiteren, unbekannten Endprodukte auftreten. Die Unsicherheit bei der quantitativen Abschätzung der Alaninbildung wurde bereits erwähnt. Eine Bildung von Glutamat, das bei *Mytilus* (Kluytmans et al., 1977) und Nereiden (Schöttler, 1982), nicht jedoch bei *Arenicola* (Felbeck, 1980) in geringem Ausmaß Endprodukt des anaeroben Stoffwechsels sein kann, wurde nicht untersucht. Geringe Veränderungen in einer Bilanz wären auch bei Berücksichtigung der Konzentrationsänderungen weiterer Intermediärprodukte z.B. aus der Glykolyse zu erwarten (vergl. Eberink und de Zwaan, 1980). Eine quantitative Bilanz der Glykogenolyse ist also auf der Basis der untersuchten Metabolite sicherlich nicht ganz vollständig, gibt aber ein vorläufiges Bild über den Umsatz im Stoffwechsel während der Anaerobiose.

Die Berechnung der Produktionsraten der einzelnen Metabolite (s. Tab. 9, S. 78) und der Umsatzrate durch die Glykogenolyse (s. Tab. 25, S. 227) wird dadurch erschwert, daß einige Metabolite wie Succinat, Propionat und Acetat aus dem Gewebe in die Coelomflüssigkeit bzw. das Inkubationswasser ausgeschieden werden. Da der Hautmuskelschlauch den größten Teil des Gewebes von *Sipunculus nudus* einnimmt (ca. 80 %, s. Tab. 1, S. 20), wurden Unterschiede im Stoffwechsel der restlichen Gewebe vernachlässigt. Die Vorgänge im Hautmuskelschlauch wurden für das Gesamtgewebe verallgemeinert und die in der Coelomflüssigkeit und im Inkubationswasser gefundenen Metabolitmengen als vom Hautmuskelschlauch ausgeschieden betrachtet. Dieses Verfahren erscheint insofern gerechtfertigt, als keine grundlegenden Unterschiede im Stoffwechsel anderer Gewebe (Retraktoren, Coelomzellen, s. Kap. 4.1.3.) nachgewiesen werden konnten und auch im Vergleich zu anderen Anaerobiern (*Mytilus*, Zurburg und Kluytmans, 1980; *Arenicola*, Schöttler, 1982) nicht zu erwarten sind. Tab. 9, S. 78, und Abb. 12, S. 80, geben Auskunft über die Konzentrationsänderungen und die Umsatzraten der verschiedenen Metabolite für die Zeiträume von 0-2, 2-6, 6-12 und 12-24 h Anaerobiose. Tab. 24 zeigt eine weitere Auswertung dieser Aufstellung. Die Umsatzraten von Aspartat, Ma-

Tab. 24: Bilanz der C-Ketten während 24 h Anaerobiose. Aufgeführt und zusammengefaßt sind die Umsätze (Δc in µmol/g Hautmuskelschlauch) von Aspartat, Malat, Succinat, Propionat und Acetat. Die jeweils wichtigen Änderungen sind mit * markiert.

C-Ketten	Δc 0 - 2 h	Δc 2 - 6 h	Δc 6 - 12 h	Δc 12 - 24 h
Aspartat	- 0,33*	- 0,70	- 0,01	- 0,06
Aspartat + Malat	- 0,10	- 0,80*	+ 0,07	- 0,13*
Succinat + Malat + Propionat	+ 0,60*	+ 0,32	+ 1,59	+ 1,50
Succinat + Propionat	+ 0,37	+ 0,42*	+ 1,50*	+ 1,57*
Acetat	- 0,04	+ 0,56*	+ 1,63*	- 0,40
Succinat + Propionat + Acetat	+ 0,33	+ 0,98*	+ 3,13	+ 1,17

lat, Succinat, Propionat und Acetat wurden hier in unterschiedlicher Weise zusammengefaßt, um Aufschluß über den quantitativen Anteil der Bildungswege in den verschiedenen Zeiträumen zu erhalten (C-Ketten-Bilanz). Dabei können in Anlehnung an Zebe et al. (1980), Felbeck (1980) und Schöttler (1982) unter Berücksichtigung der bisherigen Erörterungen folgende Stoffwechselwege angenommen werden:

Aspartat ist bis 6 h Anaerobiose Substrat des anaeroben Stoffwechsels. Der Abbau von Aspartat führt zu einer stöchiometrischen Bildung von Alanin. Malat stammt bis 6 h Anaerobiose aus Aspartat und nach 6 h aus der Carboxylierung von Pyruvat. Succinat und Propionat können aus Aspartat oder Glykogen gebildet werden. Die Bildung erfolgt über den Citratcyclus oder über die Fumaratreduktion. Acetat wird bei der Decarboxylierung von Pyruvat gebildet, das aus der Glykolyse oder aus Malat stammt. Es kann in die Lipidbiosynthese eingehen (van der Horst, 1974).

Die in Tab. 24 aufgeführten Daten lassen für die verschiedenen Zeiträume der Anaerobiose folgende Schlüsse zu:

0 - 2 h: Das metabolisierte Aspartat (- 0,33 µmol/g FG) findet sich hauptsächlich im Malat wieder (+ 0,23 µmol/g FG). Ein geringer Teil fließt weiter in die Bildung von Succinat und Propionat (+ 0,10 µmol/g FG). Die insgesamt gebildete Menge von Succinat und Propionat (0,37 µmol/g FG) übersteigt die aus dem Abbau von Aspartat gelieferte Menge an C_4-Ketten um 0,27 µmol/g FG. Wenn die Diskrepanz nicht durch Individualschwankungen verursacht ist, bleibt unklar, woher das C-Gerüst für die Bildung des überschüssigen Succinates und Propionates stammt. Eine Carboxylierungsreaktion findet nach der verbreiteten Vorstellung noch nicht statt (vergl. Schöttler, 1982). Sie würde der Vorstellung von einem Schaltmechanismus widersprechen. Denkbar wäre die Metabolisierung weiterer Aminosäuren wie z.B. Glutamin (Siegmund, 1982). Acetat wird den Ergebnissen zufolge in dieser Zeit noch nicht gebildet.

2 - 6 h: Die Umsetzung von Aspartat wird während dieser Zeit weitgehend abgeschlossen. Die Malatkonzentration sinkt vielleicht deswegen ab, so daß aus beiden Metaboliten 0,80 µmol/g FG an C_4-Ketten angeliefert werden. In der gleichen Zeit werden 0,98 µmol/g FG Succinat, Propionat und Acetat gebildet. Succinat und Propionat stammen dabei sicherlich aus Aspartat bzw. Malat. Acetat stammt wahrscheinlich aus der Disproportionierung von Malat, vielleicht aber auch aus der Decarboxylierung von glykolytischem Pyruvat. Letzteres würde den Überschuß auf Seiten der Endprodukte erklären. Eine frühzeitig einsetzende Carboxylierungsreaktion kann jedoch auch hier nicht ausgeschlossen werden.

6 - 12 h: Die „Umschaltung" des Stoffwechsels zur Carboxylierung von Pyruvat ist beendet. Insgesamt werden über diesen Weg 3,13 µmol/g FG Succinat, Propionat und Acetat gebildet. Hinzu kommt ein Anstieg des Malatgehaltes um 0,08 µmol/g FG. Diese erneute Erhöhung der Malatkonzentration könnte im Zusammenhang mit einer Erhöhung der Stoffwechselrate stehen (s. Tab. 25, S. 227).

12 - 24 h: Der Malatgehalt nimmt ab, Succinat und Propionat zeigen als einzige Metabolite eine Nettoproduktion von 1,57 µmol/g FG. Acetat wird den Ergebnissen zufolge metabolisiert.

Es ist allerdings unklar, ob die Acetatbildung selbst eingestellt wird. Wenn eine anoxe endogene Oxidation in allen Geweben abläuft, wird wahrscheinlich bei Reduktion der Stoffwechselrate in geringfügigerem Ausmaß angeliefertes Acetyl-CoA nicht mehr zu Acetat umgesetzt, sondern sofort in die Lipidbiosynthese eingehen. Eine Reduktion der Stoffwechselrate läßt sich aus den reduzierten Produktionsraten der Metabolite ableiten (s. Tab. 25, S. 227). Macht allerdings nur das Nervengewebe von dieser Möglichkeit der Energiegewinnung Gebrauch (de Zwaan, 1977; Holwerda et al., 1981b), wäre denkbar, daß Acetat im Muskelgewebe weitergebildet wird. Die Nettoabnahme des Acetatgehaltes wäre dann darauf zurückzuführen, daß die Aufnahme von Acetat durch das Nervengewebe die Abgabe durch das Muskelgewebe überwiegt.

Die Änderungen der Metabolitkonzentrationen bei Anaerobiose unterliegen wie alle Vorgänge im Stoffwechsel der absoluten Notwendigkeit einer Redoxbalance. Die gefundenen Konzentrationsänderungen der Metabolite aus der biotopbedingten anaeroben Glykogenolyse genügen dieser Forderung jedoch nicht. In der Zeit zwischen 2 und 12 h Anaerobiose wird Acetat in geringfügig höherem Ausmaß gebildet als Succinat und Propionat zusammen. Wenn die Acetatbildung die Reduktionsäquivalente für die Produktion von Succinat und Propionat zur Verfügung stellt, wäre ein Verhältnis von 1:2 zu erwarten. Acetat liefert bei seiner Bildung 2 mol $NADH+H^+$/mol, während Succinat und Propionat demgegenüber zur Oxidation von 1 mol $NADH+H^+$/mol führen. Die Produktion von Acetat liefert also in dieser Zeit mehr $NADH + H^+$ als für die Succinatbildung benötigt wird.

Ein quantitativ ähnlich hoher Anteil der Acetatproduktion läßt sich aus den Daten von Grieshaber und Hitzemann (1979) ermitteln. Bei *Mytilus*, *Arenicola* und *Tubifex* wurde dagegen eine Acetatbildung gefunden, die quantitativ nicht ausreicht, das Ausmaß der Fumaratreduktion zu erklären (Kluytmans et al., 1978; Schöttler und Schroff, 1976; Schöttler, 1980). Schöttler (1980) schloß, daß *in vivo* der Citratcyclus bei Anaerobiose beteiligt sein müsse. Dies konnte *in vitro* an isolierten Mitochondrien bestätigt werden (Schöttler, 1977b; de Zwaan et

al., 1981b; Wienhausen, 1981). Nimmt man an, daß auch bei *Sipunculus nudus* der Citratcyclus unter anaeroben Bedingungen am Stoffwechsel beteiligt ist, so wird die Diskrepanz zwischen dem gebildeten und dem reoxidierten NADH + H^+ noch größer. Diese Diskrepanz läßt sich aus den bisher bekannten Einzelheiten zum biotopbedingten Anaerobiosestoffwechsel nur dann erklären, wenn man die Existenz einer anaeroben Lipidbiosynthese annimmt, wie sie von van der Horst (1974) bei einem Gastropoden nachgewiesen wurde. Die Umwandlung von ungesättigten in gesättigte Fettsäuren würde dann zur Redoxbalance beitragen. Eine Kopplung mit einer oxidativen Phosphorylierung innerhalb von Cytosomen würde die Synthese zusätzlichen ATPs ermöglichen (Zs.-Nagy, 1977). Gesättigte Fettsäuren sind dann in jedem Fall als Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels zu betrachten.

Abb. 85 zeigt eine Zusammenfassung der bisherigen Erörterungen zum Energiestoffwechsel bei biotopbedingter Anaerobiose in Form einer schematischen Darstellung. Schema I gilt für die Zeit von 0 bis 6 h Anaerobiose. Die anfängliche, überschüssige Akkumulation von Succinat und Propionat wurde nicht berücksichtigt. Für die Zeit nach 6 h Anaerobiose wurde aus den diskutierten Gründen angenommen, daß die Carboxylierung mit Hilfe des „Malat-Enzyms" im Cytosol stattfindet (s. Schema II). Im Gegensatz zu anderen Autoren (Zebe et al., 1980; Schöttler, 1980; Schöttler 1982) wurde also auch bei längerer Anaerobiose eine fortgesetzte Aktivität der Pyruvatkinase postuliert. Allerdings wird vornehmlich in den ersten Stunden der Anaerobiose Octopin angehäuft (s. Abb. 10, S. 69). Dies stimmt mit den Ergebnissen von de Zwaan und Zurburg (1981) überein, die bei *Mytilus edulis* ebenfalls fanden, daß Strombin als Endprodukt der anaeroben Glykolyse in den ersten Stunden der Anaerobiose gebildet wird. Eine Akkumulation von Alanin, die ebenfalls an die Aktivität der Pyruvatkinase gebunden ist, beschränkt sich auch auf diese Zeit, da sie mit dem Umsatz von Aspartat gekoppelt ist (Felbeck, 1980).

Bei *Sipunculus nudus* könnte der ungewohnt hohe Anteil der Acetatbildung in den ersten 12 h der Anaerobiose ebenfalls

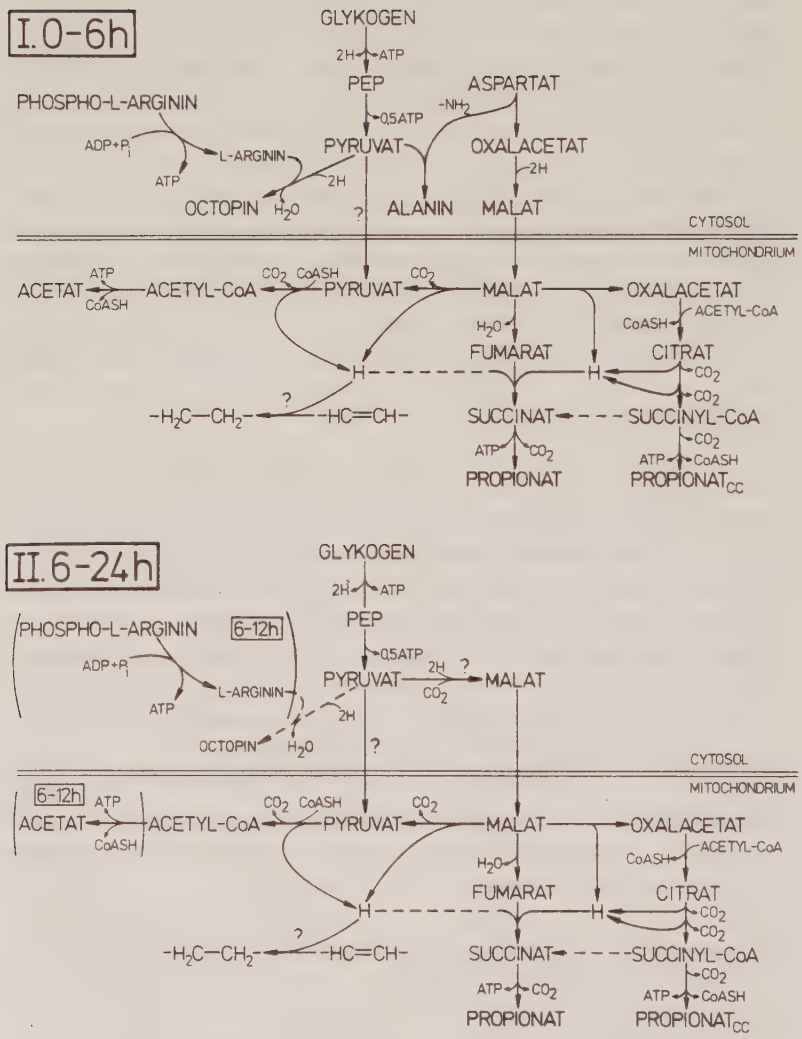


Abb. 85: Schematische Darstellung der verschiedenen Wege des anaeroben Energiestoffwechsels von Sipunculus nudus: I. 0-6 h Anaerobiose, II. 6-24 h Anaerobiose (und länger). Einzelne Schritte, die noch nicht experimentell abgesichert sind, wurden mit einem Fragezeichen versehen. Propionat, das über den Citratcyclus gebildet wird, wurde als Propionat $_{CC}$ gekennzeichnet.

auf eine fortgesetzte Aktivität der Pyruvatkinase zurückzuführen sein (s. Schema I, II). Das Ausmaß der Synthese von Acetat stünde dann in direktem Zusammenhang mit dem Glykogenolysedurchfluß (s. Tab. 25) und dem Energiebedarf der Tiere (s. Tab. 26, S. 234), d.h., Acetat wird bei hohem Glykogenolyseflux aus vermehrt angeliefertem Pyruvat gebildet. Bei geringem Energiebedarf tritt die Acetatbildung hinter die Propionatsynthese zurück, da das in geringerem Maße angelieferte Pyruvat jetzt vorwiegend carboxyliert wird. Die Annahme, daß eine Acetatbildung aus glykolytischem Pyruvat möglich ist, wird durch die Tatsache gestützt, daß in manchen Geweben auch unter normoxen Bedingungen hohe Acetatkonzentrationen vorliegen (s. Kap. 4.1.3., S. 281).

Aus Gründen der Redoxbalance ist in den Schemata eine Reduktion ungesättigter Fettsäuren angegeben. Die Möglichkeit einer „anoxen endogenen Oxidation" wurde nicht berücksichtigt. Einzelheiten innerhalb der Schemata, die noch einer experimentellen Klärung bedürfen, sind mit Fragezeichen versehen.

Tab. 25: Berechnung des anaeroben Glykogenolyseflusses (in nmol g^{-1} min^{-1}) für die Zeit von 0-24 h Anaerobiose aus der Produktion verschiedener Metabolite (Δc in µmol/g Hautmuskelschlauch). Es wurde angenommen, daß sich die glykogenolytische Produktion nach Abzug der Menge des abgebauten Aspartates (und Malates) ergibt. Für die Propionatmenge, die über den Citratcyclus gebildet wurde ($Propionat_{CC}$), wurde ein äquimolarer Abbau von Glykosyleinheiten berücksichtigt (weiteres s. Text).

Metabolite	Δc 0 - 2 h	Δc 2 - 6 h	Δc 6 - 12 h	Δc 12 - 24 h
Octopin	+ 0,39	+ 0,03	+ 0,17	- 0,08
Alanin	+ 0,33	+ 0,70	+ 0,01	+ 0,06
Succinat + Propionat + Acetat + Malat	+ 0,27	+ 0,18	+ 3,19	—
Succinat + Propionat	—	—	—	+ 1,44
$Propionat_{CC}$	+ 0,06	+ 0,07	+ 0,25	+ 0,26
Glykogenolyseflux	4,6	2,2	5,4	1,3

In Tab. 25 sind die Konzentrationsänderungen der Metabolite zusammengefaßt, die in den verschiedenen Zeiträumen einen Rückschluß auf den Glykogenolyseflux zulassen. Eine mögliche Lipidbiosynthese wurde dabei nicht berücksichtigt. Daher stimmen die ermittelten Fluxraten nicht unbedingt mit den tatsächlichen überein. Bei der Berechnung wurde berücksichtigt, daß im Citratcyclus keine cyclische Regeneration von Oxalacetat mehr stattfindet. Also wird über den Citratcyclus gebildetes Succinat und Propionat aus einer äquimolaren Menge Glykosyleinheiten synthetisiert. Da eine Netto-Bildung von Succinat über den Citratcyclus während der Anaerobiose unwahrscheinlich ist - Succinat wird auf dem Wege zur Propionatbildung in Succinyl-CoA überführt und nicht umgekehrt - wird im folgenden davon ausgegangen, daß bei Anaerobiose nur Propionat über den Citratcyclus angeliefert werden kann. Diese Schlußfolgerung hat jedoch auf das quantitative Ergebnis der Berechnungen keinen Einfluß.

Die Frage ist nun, in welchem Ausmaß der Citratcyclus zur Bildung von Propionat beiträgt. Sie kann bisher nicht beantwortet werden. In Tab. 25 ist daher eine über den Citratcyclus gebildete Propionatmenge angegeben ($Propionat_{CC}$), die aus Gründen der Redoxbalance zu erwarten wäre, wenn sämtliches $NADH + H^+$ aus der Acetatbildung im Rahmen einer Lipidbiosynthese reoxidiert würde. Zebe et al. (1980) berechneten für diesen Fall, daß 1/6 des insgesamt synthetisierten Succinates und Propionates über den Citratcyclus gebildet werden muß. Zandee et al. (1980) stellten die gleichen Überlegungen an. Für die über den Citratcyclus gebildete Propionatmenge ist ein äquimolarer Verbrauch an Glykosyleinheiten zu berücksichtigen. Octopin und Alanin als unmittelbare Endprodukte der anaeroben Glykogenolyse haben besonders in der Zeit zwischen 0 und 6 h Anaerobiose eine quantitative Bedeutung. In den ersten 2 Stunden der Anaerobiose kommt ein großer Teil des gebildeten Succinates und Propionates hinzu, dessen Ursprung allerdings (wie bereits diskutiert) noch unklar ist (s.o.). Die geringe Menge an Aspartat, die in dieser Zeit bereits in die Succinatbildung eingeht, wurde von der insgesamt gebildeten Succinat- und Propionatmenge abgezogen. Über den Citrat-

cyclus gebildetes Propionat wurde generell der glykogenolytisch gebildeten Metabolitmenge zugerechnet.

Aus den analysierten Konzentrationsänderungen resultiert für die ersten beiden Stunden der Anaerobiose ein Glykogenolyseflux von 4,6 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$. Bei der Metabolisierung weiterer Aminosäuren, die ja für die Bildung des überschüssigen Succinates oder Propionates verantwortlich sein könnte (s.o.), fällt dieser Glykogenolyseflux geringer aus, es sei denn, eine weitere Alaninbildung ist damit gekoppelt.

Bei diesen Berechnungen wurde noch nicht berücksichtigt, daß den Tieren in den ersten Stunden noch eine gewisse Menge an Sauerstoff aus der Coelomflüssigkeit zur Verfügung steht. Bei Normoxie beträgt der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere 63,95 ± 12,21 Torr (s. Abb. 27, S. 114). Das Haemerythrin ist bei diesem P_{O_2} nach Abb. 25, S. 113, zu 93,7 % gesättigt. Die gebundene Menge Sauerstoff beträgt 1,04 Vol% (vergl. 3.3.1., S. 112) oder 465 µmol/l. Hinzu kommt physikalisch gelöster Sauerstoff mit einem Betrag von 101 µmol/l. Da der P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit innerhalb von 2 h Anaerobiose bis nahe 0 Torr sinkt (s. Abb. 56, S. 157). werden in dieser Zeit unter Vernachlässigung einer geringen Restmenge insgesamt 566 µmol O_2/l verbraucht. Dies entspricht einem Sauerstoffverbrauch des Tieres von 147 nmol $g^{-1}h^{-1}$. Da der Eigenverbrauch der Coelomflüssigkeit im lebenden Tier nur 7,6 % des Sauerstoffverbrauches der Muskulatur beträgt (s. 4.1.1.c, S. 239), kann man ihn vernachlässigen. Für das Gewebe (Gewichtsanteil 48 %, s. 2.2.1., S. 20) ergibt sich ein Verbrauch von 307 nmol O_2 $g^{-1}h^{-1}$, entsprechend einem Glykogenolyseflux von 0,85 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Unter diesen Umständen resultiert ein Glykogenolyseflux von insgesamt 5,45 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Diese Berechnungen gelten unter der Voraussetzung, daß die Tiere den Sauerstoff aus der Coelomflüssigkeit nicht an das umgebende Medium verlieren. Da sich der Hautmuskelschlauch als Hauptort des Sauerstoffverbrauches zwischen Coelomflüssigkeit und Medium befindet, erscheint eine solche Möglichkeit jedoch unwahrscheinlich.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob die bei Anaerobiose gefundenen Glykogenolyseflüsse mit dem Fluß zu vergleichen sind, der sich aus dem Sauerstoffverbrauch bei Normoxie ergibt, oder mit dem niedrigsten rein aeroben Fluß. Die Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches vom äußeren P_{O_2} zeigt nämlich, daß die Tiere den Glykogenolyseflux bei geringerem Sauerstoffangebot drosseln. Bei Luftsättigung ergibt sich für das Gewebe lebender Tiere ein Fluß von 4,51 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Mit abnehmendem P_{O_2} sind die Tiere in der Lage, den Flux bis auf 1,58 nmol $g^{-1}min^{-1}$ bei 20 Torr zu drosseln, ohne zu einem anaeroben Energiestoffwechsel überzugehen (vergl. Kap. 4.1.1.c, S. 246). Der für den Zeitraum zwischen 0 und 2 h Anaerobiose ermittelte Wert von 5,45 nmol $g^{-1}min^{-1}$ könnte also ausgehend von 4,5 nmol $g^{-1}min^{-1}$ eine Erhöhung des Flusses um den Faktor 1,2 und damit einen leichten Pasteur-Effekt anzeigen oder aber ausgehend von 1,58 nmol $g^{-1}min^{-1}$ einen deutlichen Pasteur-Effekt (Erhöhung um den Faktor 3,4). Letzteres erscheint unwahrscheinlich, da die Abnahme des P_{O_2} bei experimenteller Anaerobiose für die Tiere sehr viel rascher (<1 h) erfolgt als bei den Sauerstoffverbrauchsmessungen (12 - 18 h). Ein starker Pasteur-Effekt konnte auch für andere Anaerobier nur selten gefunden werden (de Zwaan, 1977; de Zwaan und Wijsman, 1976).

In der Zeit zwischen 2 und 6 h Anaerobiose ist hauptsächlich der Abbau von Aspartat für die Anhäufung von Succinat, Propionat und Acetat verantwortlich. Die geringen Mengen, die aus der Glykogenolyse stammen, ergeben zusammen mit dem Alanin und einer geringen Menge an Octopin einen Glykogenolyseflux von 2,2 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Dies bedeutet gegenüber dem Zeitraum von 0 bis 2 h Anaerobiose eine Reduktion des Fluxes um den Faktor 2,5. Nach 2 h Anaerobiose geht dementsprechend der Energiebedarf der Tiere drastisch zurück (s. Tab. 26, S.234). Hierfür spricht auch die vorübergehende Einstellung des Abbaus von Phospho-L-Arginin (s.u.). Die Tiere stellen sich also rasch auf die Bedingung des Sauerstoffmangels ein.

Nach dem Umschalten des Stoffwechsels auf die Carboxylierung von Pyruvat steigt der Flux jedoch wieder an und erreicht in

der Zeit von 6 - 12 h Anaerobiose mit 5,4 nmol $g^{-1}min^{-1}$ einen Wert, der etwas über dem aeroben Ruhewert liegt. Die Reduktion der Stoffwechselrate in den ersten Stunden der Anaerobiose ist also eine vorübergehende Anpassung, die vom Tier zunächst nicht lange aufrecht erhalten wird.

In der Zeit von 12 bis 24 h Anaerobiose wird der Glykogenolyseflux erneut reduziert. Die Reduktion erfolgt drastisch bis auf 1,3 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Dies bedeutet gegenüber dem aeroben Ausgangswert von 4,5 nmol $g^{-1}min^{-1}$ einen Rückgang der Fluxrate um den Faktor 3,5. Die Metabolisierung von Acetat wurde bei diesen Berechnungen nicht berücksichtigt.

Die Ergebnisse zeigen also insgesamt einen anfänglichen, geringen Pasteur-Effekt und eine Reduktion des Glykogenolyseflusses, die nach 12 h besonders deutlich wird. Ein vorübergehender Rückgang der Stoffwechselrate, der an den Umsatz von Aspartat gekoppelt ist, zeigt sich bereits in der Zeit von 2 bis 6 h Anaerobiose. Die Reduktion des Glykogenumsatzes bei längerfristiger Anaerobiose entspricht den Befunden, die auch an anderen fakultativen Anaerobiern erhoben wurden (de Zwaan und Wijsman, 1976; Schöttler und Schroff, 1976).

Blickt man auf Tab. 9, S. 78, und Abb. 12, S. 80, zurück, so läßt sich analysieren, welche Metabolite in ihren Produktionsraten von den sich ändernden Fluxraten in der Glykogenolyse jeweils betroffen sind.

In der Zeit von 0 bis 2 h Anaerobiose sind hauptsächlich die hohen Produktionsraten von Succinat (0,13 µmol $g^{-1}h^{-1}$), Alanin (0,17 µmol $g^{-1}h^{-1}$) und Octopin (0,20 µmol $g^{-1}h^{-1}$) dafür verantwortlich, daß die Glykogenolyserate nicht abfällt. Acetat wird gar nicht, Propionat nur in geringem Ausmaß (0,05 µmol $g^{-1}h^{-1}$) gebildet.

Succinat und Octopin zeigen anschließend ein auffälliges Verhalten, da ihre Produktionsrate nach 2 h wieder deutlich bis auf 0,02 bzw. 0,008 µmol $g^{-1}h^{-1}$ sinkt. Alanin wird dagegen in der Zeit von 2 bis 6 h Anaerobiose verbunden mit der Umsetzung von Aspartat mit einer unvermindert hohen Rate von 0,18 µmol $g^{-1}h^{-1}$ synthetisiert. Die Drosselung der Octopin- und

Succinatsynthese könnte mit einer ersten Reaktion des Tieres auf den O_2-Mangel verbunden sein. Diese Reaktion beinhaltet den Übergang zu geringerem Energieverbrauch, verbunden mit einer Verminderung der Glykogenolyserate und einem Rückgang des Phosphagenumsatzes (s.u.). Die Faktoren, die diese Drosselung direkt verursachen, sind unbekannt. In dieser Zeit dient Aspartat vorübergehend als Substrat des anaeroben Energiestoffwechsels. Damit verbunden zeigt sich eine geringe Steigerung der Propionatsynthese (0,08 µmol $g^{-1}h^{-1}$) und eine Steigerung der Acetatsynthese von 0 auf 0,14 µmol $g^{-1}h^{-1}$.

Bei einer erneuten Steigerung des Glykogenolyseflusses in der Zeit zwischen 6 und 12 h Anaerobiose sind nicht mehr Succinat und Octopin so stark betroffen (0,06 bzw. 0,03 µmol $g^{-1}h^{-1}$), sondern in viel größerem Ausmaß Acetat (0,27 µmol $g^{-1}h^{-1}$) und Propionat (0,19 µmol $g^{-1}h^{-1}$). Der Rückgang der Octopinbildung ist ein Indiz dafür, daß Pyruvat wie oben diskutiert in zunehmendem Ausmaß carboxyliert bzw. von den Mitochondrien für die Acetatsynthese abgenommen wird. Die Pyruvatkonzentration im Cytosol wird dabei anscheinend so niedrig gehalten, daß nur eine geringe Menge an Octopin gebildet werden kann. Die Pyruvat-„Schaltstelle" mit Bildungsmöglichkeiten für Octopin, Acetat, Malat und Alanin bedarf noch der experimentellen Verifizierung. Dies gilt auch im Hinblick auf die hier wirksamen regulatorischen Parameter.

Nach 12 h Anaerobiose wird die Flußrate der anaeroben Glykogenolyse erneut reduziert. Hiervon ist überraschenderweise das Succinat mit einer Produktionsrate von 0,07 µmol $g^{-1}h^{-1}$ zunächst nicht betroffen, dafür jedoch das Propionat, dessen Syntheserate auf 0,06 µmol $g^{-1}h^{-1}$ sinkt. Acetat wird dagegen überhaupt nicht mehr produziert, sondern nimmt sogar um 0,03 µmol $g^{-1}h^{-1}$ ab. Diese Änderungen lassen den Schluß zu, daß bei längerfristiger Anaerobiose die Produktion der Fettsäuren und dabei insbesondere die Produktion von Acetat direkt vom Energiebedarf abhängt. Succinat wird dagegen unvermindert weitergebildet, bis nach 24 h Anaerobiose eine Gleichgewichtskonzentration erreicht ist. Allerdings muß man sich klar machen, daß Propionat zum großen Teil über Succinat gebildet wird.

Es ist unbekannt, welche Parameter das Ausmaß der Fettsäuresynthese beeinflussen. Der Energieinhalt scheidet hierfür aus, da er während der Anaerobiose kaum Änderungen zeigt.

Der anaerobe Energiestoffwechsel steht im Dienste der Regenerierung von ATP. Die Energieausbeute des anaeroben Glykogenstoffwechsels ist jedoch verglichen mit der des aeroben Stoffwechsels gering. Bei *Sipunculus nudus* kann man wie bei vielen marinen Invertebraten (Zammit und Newsholme, 1976) annehmen, daß die Reduktionsäquivalente mit Hilfe des Malat-Aspartat-Shuttles aus dem Cytosol in die Mitochondrien gelangen. Darauf weist die Aktivitätsverteilung der Malatdehydrogenase in den Geweben hin, die an die Mitochondrienverteilung gekoppelt zu sein scheint (s. 4.1.3., S. 296). Außerdem liegt die Glycerophosphatdehydrogenase in ebenso niedrigen Aktivitäten wie bei anderen marinen Invertebraten vor (s. Zammit und Newsholme, 1976). Aus diesen Überlegungen resultiert , daß *Sipunculus nudus* beim Abbau von Glycogen unter aeroben Verhältnissen eine ATP-Ausbeute von 39 mol ATP/mol Glykosyleinheiten erzielt. Aus dem oben genannten aeroben Glykogenolyseflux von 4,5 nmol $g^{-1}min^{-1}$ ergibt sich dann ein ATP-Umsatz von 174,9 nmol $g^{-1}min^{-1}$.

Unter anaeroben Bedingungen hängt die ATP-Ausbeute davon ab, welche Metabolite akkumuliert werden (Zebe et al., 1980; Zandee et al., 1980). In der anaeroben Glykogenolyse liefert die Anhäufung von Octopin 1,5, von Malat 1,5, Alanin 1,5, Succinat 2,5, Acetat 2,5 und Propionat 3,5 mol ATP/mol. Die Umsetzung von Aspartat mindert die ATP-Ausbeute bei der Bildung von Malat, Succinat, Propionat und Acetat um 1,5 mol ATP/mol. Dieses Defizit wird jedoch durch die Alaninsynthese ausgeglichen, die mit dem Umsatz von Aspartat gekoppelt ist. Die Bildung von Succinat und Propionat über den Citratcyclus erhöht die Ausbeute für die genannten Metabolite um 1,5 mol ATP/mol, da Acetyl-CoA, welches zusätzlich in der Glykogenolyse gebildet wird, in die Reaktion eingeht.

Tab. 26 zeigt eine Zusammenstellung der ATP-Ausbeute, die sich aus den Konzentrationsänderungen der Metabolite in den Zeiträumen von 0 - 2, 2 - 6, 6 - 12, 12 - 24 h ergibt. Von 0 - 12 h

Tab. 26: Berechnung der anaeroben ATP-Bildung (in µmol/g Hautmuskelschlauch) für die Zeit von 0-24 h Anaerobiose aus dem Umsatz der verschiedenen Metabolite im Energiestoffwechsel (s. Abb. 85 I bzw. II). Für die Propionatmenge, die über den Citratcyclus gebildet wurde (Propionat$_{CC}$), ist der zusätzliche ATP-Gewinn bei der Synthese von Acetyl-CoA angegeben. Die ATP-Umsatzraten wurden in nmol $g^{-1}min^{-1}$ berechnet.

Metabolite	ATP-Bildung			
	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h
Malat	—	- 0,16	+ 0,12	- 0,10
Aspartat	- 0,14	- 1,05	- 0,02	- 0,09
Alanin	+ 0,50	+ 1,05	+ 0,02	+ 0,09
Succinat	+ 0,65	+ 0,22	+ 0,89	+ 2,05
Propionat	+ 0,36	+ 1,17	+ 4,03	+ 2,63
Propionat$_{CC}$	+ 0,09	+ 0,11	+ 0,38	+ 0,40
Acetat	—	+ 1,41	+ 4,08	—
Octopin	+ 0,59	+ 0,05	+ 0,26	—
Phospho-L-Arginin	+ 7,25	+ 0,08	+ 6,77	—
Summe	9,30	2,87	16,51	4,97
ATP-Umsatzrate	77,5	12,0	45,9	6,9

Anaerobiose spielt das Phosphagen eine wichtige Rolle für die Regenerierung von ATP. Da die Konzentrationen der Adenylate während der Anaerobiose konstant bleiben, muß eine Abnahme des ATP-Gehaltes bei der Berechnung des ATP-Umsatzes nicht berücksichtigt werden. Die Umschaltung des Bildungsweges für Succinat und Propionat im Verlauf der Anaerobiose wurde für die Berechnung des ATP-Umsatzes berücksichtigt (s. Abb. 85 I und II). Der zusätzliche ATP-Gewinn durch die Beteiligung des Citratcyclus ist für Propionat$_{CC}$ angegeben und ist auch bei den ATP-Umsatzraten mit berücksichtigt.

In den ersten 2 h der Anaerobiose geht bereits ein großer Teil des Phosphagens (51 % der insgesamt umgesetzten Menge) in die

ATP-Bildung ein. Aus den analysierten Konzentrationsänderungen und dem Phosphagen resultiert insgesamt ein anaerober ATP-Umsatz von 77,5 nmol $g^{-1}min^{-1}$. In dieser Zeit wird auch der in der Coelomflüssigkeit gespeicherte Sauerstoff zur ATP-Gewinnung herangezogen. Bezieht man diesen Sauerstoffverbrauch mit ein, so erhöht sich der ATP-Umsatz auf 110,7 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Der Sauerstoff trägt also noch etwa 30 % zur Energieversorgung bei. Gegenüber einem Ruheumsatz von 174,9 nmol $g^{-1}min^{-1}$ bedeutet der angegebene Umsatz von 110,7 $g^{-1}min^{-1}$ eine Reduktion auf 63 %.

Für die Zeit von 2 bis 6 h Anaerobiose ergibt sich eine drastische Reduktion des ATP-Umsatzes, die rechnerisch darauf zurückzuführen ist, daß in dieser Zeit der Glykogenolyseflux vorübergehend abnimmt und der Abbau des Phospho-L-Arginins stagniert, so daß insgesamt nur 12,0 nmol $g^{-1}min^{-1}$ ATP verbraucht werden. Dies entspricht 6,8 % des ATP-Umsatzes unter normoxen Bedingungen. Daraus kann man schließen, daß *Sipunculus nudus* bereits nach 2 h Anaerobiose in der Lage ist, seinen Energiebedarf drastisch zu reduzieren. Diese Phase ist jedoch nach 6 h vorübergehend beendet. Ein biologischer Sinn läge darin, kurze Zeiten der Anaerobiose ohne Vergeudung von Energiereserven in extremer Passivität zu überdauern. Da *Sipunculus nudus* die Gezeitenzone nur in der Nähe der Niedrigwasserzone besiedelt, wäre dort eine solche Anpassung an kurze Anaerobiosephasen von besonderer Bedeutung.

In der Zeit von 6 bis 12 h Anaerobiose steigt der ATP-Umsatz wieder an. Der Glycogenolyseflux erreicht nach der Umschaltung des Stoffwechsels aerobe Werte, verbunden mit einem weiteren Abbau des Phosphagens. Insgesamt werden dementsprechend 45,9 nmol ATP $g^{-1}min^{-1}$ umgesetzt. Dies entspricht 26,2 % des aeroben Verbrauches. Eine so frühe Reduktion des ATP-Umsatzes wie von 2 bis 6 h Anaerobiose kann das Tier anscheinend nicht aufrecht erhalten.

Von 12 bis 24 h sinkt der ATP-Verbrauch wieder ab. In dieser Zeit wird kein Phosphagen mehr abgebaut, im Gegenteil, den Konzentrationsänderungen des Phospho-L-Arginins zufolge wird sogar Phosphagen resynthetisiert. Das Verhalten des Quotienten

der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin bestätigt diese Wiederauffüllung des Phosphagens zwar nicht, jedoch konnte auch nach einer Inkubation bei P_{O_2} = 0,8 Torr ein solcher „Erholungseffekt" für die Zeit von 24 bis 48 h gefunden werden. Hier nahm nicht nur der Gehalt an Phosphagen im Gewebe (Hautmuskelschlauch und Retraktoren) zu, sondern auch der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin. Pelster (1982) fand bei *Branchiostoma lanceolatum* während langfristiger Anaerobiose im Hinblick auf eine Resynthese des Phosphagens einen noch deutlicheren „Erholungseffekt". Wijsman (1976) fand diesen Effekt bei sterbenden Exemplaren von *Mytilus edulis*. Allerdings ist fraglich, ob es sich hier um einen prämortalen Vorgang handelt, da *Sipunculus nudus* in der Lage ist, längere Zeiten der Anaerobiose zu überleben und sich auch zu erholen. Eine Erklärung dieses „Erholungseffektes" durch totale Passivität erscheint sehr viel plausibler.

Die Resynthese des Phosphagens sowie die Metabolisierung von Acetat wurden nicht für die Berechnung des ATP-Umsatzes berücksichtigt, da beide Prozesse ATP verbrauchen. Aus den restlichen Konzentrationsänderungen resultiert ein ATP-Umsatz von 6,9 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Dieser ATP-Verbrauch entspricht 3,9 % des Verbrauches unter Normoxie bzw. 11,2 % der aeroben Mindestumsatzrate am kritischen P_{O_2} (P_c) (s. 4.1.1.c, S. 247). Es ist erstaunlich, daß *Sipunculus nudus* in der Lage ist, bei dieser geringen Umsatzrate einen geringen Teil des Phosphagens zu regenerieren bzw. sogar den Ergebnissen zufolge akkumuliertes Acetat zu metabolisieren. Berücksichtigt man die Phosphagensynthese und die Acetatmetabolisierung mit einem ATP-Verbrauch von je 1 mol ATP/mol, so reduziert sich der ATP-Umsatz weiter bis auf 5,0 nmol $g^{-1}min^{-1}$ bzw. 2,9 % des Umsatzes bei Normoxie. Allerdings muß offen bleiben, ob weitere anaerobe Endprodukte existieren, die das Ausmaß der Abnahme des ATP-Verbrauches reduzieren.

Eine ähnlich drastische Reduktion des Energiebedarfes errechneten de Zwaan und Wijsman (1976) für *Mytilus edulis*. Sie fanden eine Abnahme des ATP-Umsatzes auf etwa 5 % des Verbrauches unter Normoxie. Diese Reduktion ließ sich durch kalorimetri-

sche Untersuchungen nicht nur für *Mytilus edulis* (Shick et al., 1982), sondern auch für andere Mollusken bestätigen (Pamatmat, 1979).

Zs.-Nagy (1977) bezweifelte die Möglichkeit einer drastischen Beschränkung des Energiebedarfes und sah darin eine Bestätigung für die Existenz einer „anoxen endogenen Oxidation". Eine solche Möglichkeit ist bei *Sipunculus nudus* noch experimentell zu untersuchen. Eine Reduktion des Energiebedarfes in dem Ausmaß, wie sie hier errechnet wurde, erhält ihre biologische Bedeutung dadurch, daß das Tier auf diese Weise nicht nur einen Pasteur-Effekt und damit einen übermäßigen Verlust energiereicher Speichersubstanzen, sondern auch eine übermäßige Akkumulation von Endprodukten vermeidet, die eine osmotische Belastung der Zelle und eine Belastung des Säure-Basen-Haushaltes mit sich bringen könnte. Weiterhin wird eine übermäßige Exkretion von Endprodukten vermieden, die letztendlich den Verlust energiereicher Substanzen bedeutet.

Oben wurde die Frage nach den Faktoren gestellt, die die Reduktion des Energiebedarfes verursachen. Unklar ist dabei, welche energieverbrauchenden Prozesse von der Reduktion des Energiebedarfes betroffen sind. Naheliegend ist z.B. die Abnahme sämtlicher Aktivität. Fraglich ist auch, inwieweit ein sich ändernder P_{O_2} in der Lage ist, Einfluß auf den Energiebedarf der Tiere zu nehmen. Dieses Problem wird im folgenden Kapitel diskutiert.

(c) O_2-Versorgung und biotopbedingte Anaerobiose

Sipunculus nudus kann die Rate seines Energieumsatzes bei biotopbedingter Anaerobiose bis unter 5 % des Energieumsatzes bei Normoxie senken. Diese Reduktion des Energieverbrauches geht mit einer Verminderung der Stoffwechselrate einher (s. Tab. 25, S. 227, und 26, S. 234). Die Sauerstoffversorgung hat also nicht nur Einfluß auf die Art der Energiegewinnung, sondern auch auf die Stoffwechselrate und den Energieverbrauch.

Unter aeroben Verhältnissen ist der Sauerstoffverbrauch ein direktes Maß für den Energieumsatz. Dies gilt so lange, wie

die Sauerstoffversorgung ausreicht und ein anaerober Stoffwechsel nicht zur Energiegewinnung beiträgt, d.h., so lange, wie im Gewebe keine Konzentrationsänderungen anaerober Stoffwechselprodukte auftreten. Die Untersuchungen zum Einfluß des P_{O_2} auf den Sauerstoffverbrauch und den Modus der Energiegewinnung dienten also u.a. der Beantwortung folgender Fragen:

- Hängt die Stoffwechselrate direkt vom P_{O_2} im Atemmedium ab?
- Bis zu welchem P_{O_2} im Atemmedium ist *Sipunculus nudus* in der Lage, einen vollständig aeroben Stoffwechsel aufrechtzuerhalten?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden der Sauerstoffverbrauch sowie die stationären Konzentrationen wichtiger Metabolite des anaeroben Stoffwechsels in Abhängigkeit vom P_{O_2} bestimmt. Die Untersuchungen des Sauerstoffverbrauches wurden an großen Tieren, kleinen Tieren und an isoliertem Muskelgewebe und isolierter Coelomflüssigkeit großer Tiere durchgeführt.

Die Coelomflüssigkeit verbraucht bei gleichem P_{O_2} (60 Torr) etwa 3-4mal weniger Sauerstoff als die isolierte Muskulatur. Mit abnehmendem P_{O_2} verringert sich der O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit scheinbar sehr viel stärker als derjenige der Muskulatur, die schließlich bei einem P_{O_2} von 10 Torr 7mal mehr Sauerstoff aufnimmt. Dies führt dazu, daß die Coelomflüssigkeit dem Kurvenverlauf in Abb. 16, S. 97, zufolge bei einem P_{O_2} von 5 Torr im Coelom keinen Sauerstoff mehr verbrauchen würde. Es handelt sich bei diesem Phänomen jedoch wahrscheinlich nicht um einen „aerobic shut down" (Mangum und van Winkle, 1973), wie er pH-bedingt bei Coelomocyten von *Phascolopsis gouldi* gefunden wurde (Mangum und Kondon, 1975), sondern es ist anzunehmen, daß mit abnehmendem P_{O_2} vermehrt Sauerstoff vom Haemerythrin freigesetzt und daher ein so weitgehend reduzierter O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit nur vorgetäuscht wird. Ähnliches wurde von Wells und Dales (1975) an Coelomocyten von Terrebelliden beobachtet.

Der Unterschied im Sauerstoffverbrauch großer Tiere (35,3 ± 1,2 g) und kleiner Tiere (8,9 ± 2,1 g) scheint unter normoxen

Bedingungen zunächst auffällig. Große Tiere verbrauchen 15,48 ± 1,63 µl O_2 $g^{-1}h^{-1}$, kleine Tiere 18,91 µl O_2 $g^{-1}h^{-1}$. Mit abnehmendem P_{O_2} wird der Unterschied jedoch verschwindend gering, so daß in den folgenden Erörterungen vereinfachend von einem übereinstimmenden O_2-Verbrauch großer und kleiner Tiere ausgegangen wird.

Ein drastischer Unterschied zeigt sich zwischen dem O_2-Verbrauch ganzer Tiere und dem O_2-Verbrauch isolierter Muskulatur. Der O_2-Verbrauch ganzer Tiere setzt sich vereinfacht aus dem Verbrauch der Muskulatur und dem Verbrauch der Coelomflüssigkeit zusammen. Unter Normoxie verbrauchen große Tiere 15,48 ± 1,63 µl O_2 $g^{-1}h^{-1}$ bzw. 691 nmol O_2 $g^{-1}h^{-1}$. Laut Abb. 27, S. 114, besitzen große Tiere, die unter normoxen Bedingungen im Wasser gehältert werden, einen P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit von 41,98 ± 5,50 Torr. Bei diesem P_{O_2} verbraucht die Coelomflüssigkeit laut Abb. 16, S. 97, 2,27 µmol O_2 $ml^{-1}h^{-1}$ bzw. 101 nmol $ml^{-1}h^{-1}$. Veranschlagt man den Anteil der Muskulatur am Gesamttier mit 48 % und den Anteil der Coelomflüssigkeit mit 52 %, so errechnet sich der O_2-Verbrauch des Hautmuskelschlauches im intakten Tier nach:

$$\dot{M}_{O_2 HMS} = (\dot{M}_{O_2 Tier} - 0{,}52\ \dot{M}_{O_2 Coel.})\ 0{,}48^{-1}$$

Bei lebenden Tieren liegt der O_2-Verbrauch der Muskulatur mit 1330 nmol $g^{-1}h^{-1}$ um den Faktor 1,55 höher als der Verbrauch isolierten Muskelgewebes. Die Ursache hierfür liegt wahrscheinlich in einem höheren Aktivitätszustand der Muskulatur des lebenden Tieres. Der Sauerstoffverbrauch der isolierten Muskulatur kommt demnach der Stoffwechselrate nahe, die das Tier bei totaler Passivität zeigen würde. Diese Überlegungen gelten unter der Voraussetzung, daß der O_2-Verbrauch anderer Gewebe, die wie z.B. das Nervengewebe nur einen geringen Anteil am Gewicht des Tieres haben, nicht überproportional höher liegt als derjenige der Muskulatur. Der O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit beträgt nach diesen Berechnungen im lebenden Tier nur 7,6 % des O_2-Verbrauches der Muskulatur.

Bei lebenden Tieren und auch bei isoliertem Muskelgewebe ist der Sauerstoffverbrauch ausgehend von normoxen Verhältnissen

mit abnehmendem P_{O_2} nahezu linear vom P_{O_2} im Atemwasser abhängig. Bei 50 Torr beträgt der Sauerstoffverbrauch in allen Fällen noch ca. 50 % der bei Normoxie gefundenen Rate. Bis zu diesem P_{O_2} wurden auch noch keine Änderungen in den Metabolitkonzentrationen gefunden, so daß auch die Stoffwechselrate von Normoxie bis Torr insgesamt um ca. 50 % reduziert wird. *Sipunculus nudus* gehört also zu den Oxykonformern, deren Metabolismus eine lineare Abhängigkeit von der Sauerstoffversorgung zeigt (Prosser, 1973). Eine Abhängigkeit des Sauerstoffverbrauches vom P_{O_2} im Atemmedium war bereits von Henze (1910) für *Sipunculus nudus* und von Edmonds (1957) für andere Sipunculiden beschrieben worden.

Sipunculus nudus gehört aufgrund der Tatsache, daß er ein Oxykonformer ist, nicht zu den fakultativen Anaerobiern, die wie z.B. *Nephtys hombergii* ihren O_2-Verbrauch regulieren und z.B. durch aktive Ventilation eine optimale O_2-Versorgung bis zu einem möglichst minimalen P_{O_2} aufrecht erhalten (vergl. Brafield, 1978). Mangum und van Winkle (1973) halten verallgemeinernd die Regulation der O_2-Aufnahme für eine Errungenschaft, die mit der Verlagerung des respiratorischen Gewebes in das Körperinnere einhergeht. Eine derartig einfache Klassifizierung ist jedoch fragwürdig, da viele verschiedene Faktoren wie Temperatur, Salinität und Ernährungszustand den O_2-Verbrauch beeinflussen (Herreid, 1980; Newell, 1973, 1979) und da Individuen, die unter bestimmten Bedingungen Regulatoren sind, unter anderen Bedingungen Konformer sein können (z.B. *Mytilus edulis*, Bayne, 1971; *Crepidicula fornicata*, Newell et al., 1978). Es wäre also denkbar, daß *Sipunculus nudus* unter natürlichen Bedingungen im Biotop seine Sauerstoffaufnahme reguliert, indem das Tier seine Ventilationstätigkeit in der Atemhöhle dem äußeren P_{O_2} anpaßt. Genauere Untersuchungen des Sauerstoffverbrauches im Sediment stehen jedoch noch aus.

Die lineare Abhängigkeit des O_2-Verbrauches vom P_{O_2} besteht bei *Sipunculus nudus* bis zu einem bestimmten P_{O_2} der hier auch kritischer P_{O_2} genannt werden soll. Bei weiter abnehmenden P_{O_2}-Werten folgt der O_2-Verbrauch einer hyperbelförmigen Kurve in Richtung auf den Nullwert. Der kritische P_{O_2} (= P_c, Dejours, 1975) liegt bei großen Tieren zwischen 40 und 60 Torr, bei kleinen Tieren zwischen 20 und 40 Torr und bei isoliertem Gewebe nahe

10 Torr. Der P_c ist also von der Körpergröße abhängig. Eine solche Abhängigkeit des P_c von der Körpergröße tritt auch bei Regulatoren auf (Prosser, 1973). Die Tatsache, daß auch der O_2-Verbrauch des isolierten Gewebes einen P_c zeigt, legt die Vermutung nahe, daß der kritische P_{O_2} diffusionsbedingt ist.

Bei Oxyregulatoren ist der Sauerstoffverbrauch oberhalb des P_c vom P_{O_2} unabhängig, d.h., bis zum P_c hält das Tier durch Ventilation einen konstanten O_2-Verbrauch aufrecht, und die O_2-Verbrauchsgerade hat die Steigung bzw. den Steigungswinkel 0 (Prosser, 1973). Wenn *Sipunculus nudus* seine O_2-Aufnahme oberhalb des P_c reguliert, indem das Tier seine ventilatorische Muskelaktivität steuert, dann müßte der Steigungswinkel der O_2-Verbrauchsgeraden lebender Tiere kleiner sein als derjenige bei isoliertem, vollkommen passivem Muskelgewebe. Ein derartig einfacher Vergleich ist jedoch nur dann möglich, wenn die O_2-Versorgung des isolierten Gewebes durch Diffusion sich im Experiment nicht wesentlich von der diffusionsbedingten O_2-Versorgung des gleichen Gewebes im lebenden Tier unterscheidet. Der Hautmuskelschlauch von *Sipunculus nudus* wird im Tier auf der Innenseite von der Coelomflüssigkeit und auf der Außenseite vom Atemmedium Wasser umspült. Er wird aber wahrscheinlich hauptsächlich vom Außenmedium mit O_2 versorgt. Diese Überlegung gilt zumindest für Tiere, die sich wie in diesem Experiment im freien Wasser befinden und bei denen der Sauerstoff über die gesamte Körperoberfläche, d.h. über den Hautmuskelschlauch aufgenommen werden kann. Ein besonderes Gewebe mit respiratorischer Funktion ist bei *Sipunculus nudus* nicht ausgebildet. Den Tentakeln kann diese Funktion nicht zukommen, da sie nur selten ausgefahren werden. Die Annahme, daß der vom Hautmuskelschlauch verbrauchte Sauerstoff hauptsächlich aus dem Außenmedium stammt, wird auch dadurch gestützt, daß in den äußeren Bereichen des Hautmuskelschlauches eine höhere Mitochondriendichte zu finden ist als in der Längsmuskulatur, die keinen direkten Kontakt zum Außenmedium hat (s. 4.1.3., S. 284). Veränderungen des P_{O_2} in der Coelomflüssigkeit, die in Abhängigkeit vom P_{O_2} im Außenmedium auftreten, sollten also keinen wesentlichen Effekt auf den Sauerstoffverbrauch des Hautmuskelschlauches haben. Wenn die Innenseite des isolierten Gewebes

im Unterschied zur Situation im lebenden Tier auch Kontakt mit dem sauerstoffreichen Außenmedium hat, so könnte die O_2-Versorgung der Muskulatur intakter Tiere nach diesen Erörterungen doch mit der isolierten Muskelgewebes vergleichbar sein.

Der Steigungswinkel der O_2-Verbrauchsgeraden großer Tiere (r = 0,992) beträgt 17,5°, der Steigungswinkel der Verbrauchsgeraden kleiner Tiere (r = 0,977) 23,0° und derjenige der Verbrauchsgeraden des isolierten Muskelgewebes (r = 0,995) 29,0°. Da der Steigungswinkel des passiven Muskelgewebes von den genannten Werten am größten ist, könnte man vermuten, daß lebende Tiere ihre respiratorische Aktivität mit abnehmendem P_{O_2} steigern und auf diese Weise ihren Sauerstoffverbrauch regulieren. *Sipunculus nudus* reguliert jedoch in einem weitaus geringeren Ausmaß als ein typischer Oxyregulator, dessen O_2-Verbrauch in einem weiten Bereich unabhängig vom P_{O_2} ist (Prosser, 1973). Diese Ergebnisse unterstützen vielmehr den Befund von Mangum und van Winkle (1973), daß viele verschiedene Übergangsformen zwischen reinen Oxykonformern und reinen Oxyregulatoren existieren (s.a. Herreid, 1980).

Große Tiere regulieren dem Steigungswinkel zufolge in größerem Ausmaß als kleine Tiere. Ähnliche Befunde wurden von Bayne (1971) an *Mytilus edulis* und von Taylor und Brand (1975) an *Arctica islandica* erhoben, allerdings von Famme (1980) in Frage gestellt. Famme behauptet, daß kleine Tiere unter Laborbedingungen nur deshalb eine größere Sauerstoffabhängigkeit zeigen, weil sie schneller vom Nahrungsentzug betroffen sind als große Tiere. Große Tiere benötigen jedoch weniger Kraft für die Ventilation als kleine Tiere. Dies konnte bei *Sipunculus nudus* bei der Messung der Ventilationstätigkeit im Sand festgestellt werden (s. Tab. 16, S. 128). Scheinbar fällt es großen Tieren auch im freien Wasser leichter zu regulieren als kleinen Tieren.

Insgesamt hat jedoch die Aktivität der Tiere für die O_2-Versorgung unter den gewählten experimentellen Bedingungen (Tiere im Wasser) eine vergleichsweise geringe Bedeutung. Im Sediment dagegen ist die Abhängigkeit der Sauerstoffversorgung von der ventilatorischen Aktivität der Tiere sehr viel größer. Eine regulatorische Tätigkeit wäre hier denkbar. So fand Krüger (1958), daß *Arenicola marina* in einem Kunstbau bis

hinab zu einem P_{O_2} von 22 Torr reguliert. Das Tier wird dagegen zum Konformer, wenn es sich in freiem Wasser befindet (Toulmond, 1975).

Die Abhängigkeit des P_{O_2} im Coelom ($P_{O_2 i}$) vom äußeren P_{O_2} ($P_{O_2 a}$) (s. Abb. 27, S. 114) läßt vermuten, daß die Diffusion über den Hautmuskelschlauch ein wichtiger Faktor für die O_2-Versorgung im Wasser liegender Tiere ist (s. auch Florkin, 1933, 1934). Hinzu kommt, daß der Sauerstoff auf der inneren Seite des Hautmuskelschlauches von der Coelomflüssigkeit aufgenommen und bei vorhandener Zirkulation oder Durchmischung der Coelomflüssigkeit verteilt wird. Für die Einstellung des $P_{O_2 i}$ ist wichtig

a) die Dicke des Hautmuskelschlauches, d.h. der Diffusionswiderstand. Zur Herabsetzung des Diffusionswiderstandes enthält der Hautmuskelschlauch Coelomkanäle.

b) der Sauerstoffverbrauch des Hautmuskelschlauches pro Oberflächeneinheit bzw. der Sauerstoffverbrauch pro g Körpergewicht.

Geht man davon aus, daß der spezifische Verbrauch bei großen und kleinen Tieren annähernd gleich groß ist (s.o.), so ergibt sich bei größeren Tieren infolge eines größeren Körpergewichtes pro Oberflächeneinheit (bzw. eines dickeren Hautmuskelschlauches) ein größerer Diffusionswiderstand. Da das Verhältnis der Oberfläche zum Tiergewicht bei großen Tieren kleiner ist als bei kleinen Tieren, kommt ein größerer O_2-Verbrauch des Hautmuskelschlauches pro Oberflächeneinheit hinzu. Auf diese Weise läßt sich die größere Differenz zwischen $P_{O_2 i}$ und $P_{O_2 a}$ bei großen Tieren erklären. Von einem $P_{O_2 a} = 0$ Torr ausgehend wird bis zu einem bestimmten $P_{O_2 a}$ der größte Teil des eindiffundierenden Sauerstoffes zunächst vom Hautmuskelschlauch verbraucht, so daß der $P_{O_2 i}$ nur geringfügig ansteigt. Ein deutlicher Anstieg des $P_{O_2 i}$ erfolgt bei großen Tieren erst ab einem $P_{O_2 a}$ von 22 Torr. Ein linearer Anstieg des $P_{O_2 i}$ ist bei kleinen Tieren bereits ab $P_{O_2 a}$ = 22 Torr, bei großen Tieren erst ab 75 Torr zu beobachten. Es wird deutlich, daß der Übergang zu einer linearen Abhängigkeit des $P_{O_2 i}$ vom $P_{O_2 a}$

bei großen Tieren einen größeren Bereich des äußeren P_{O_2} umfaßt als bei kleinen Tieren. Da der Hautmuskelschlauch nicht homogen ist, sondern zur Verringerung des Diffusionswiderstandes Coelomkanäle enthält, dringt bereits Sauerstoff in die Coelomflüssigkeit ein, wenn der Bedarf des Hautmuskelschlauches noch nicht voll gedeckt ist. Dieses Phänomen erklärt zunächst einmal die Existenz des Übergangsbereiches. Der Bereich ist bei großen Tieren größer, da die Differenz des P_{O_2} zwischen außen und innen größer ist (s.o.).

Die Funktion der Coelomkanäle besteht nach diesen Überlegungen darin, die inneren Gewebe auch bei niedrigen äußeren P_{O_2}-Werten mit Sauerstoff zu versorgen. Dabei gelangt Sauerstoff am Verbrauchsort Hautmuskelschlauch vorbei in die Coelomflüssigkeit. Die Ergebnisse zeigen, daß die O_2-Versorgung der inneren Organe bei kleinen Tieren generell besser ist als bei großen Tieren.

Vergleicht man die Abhängigkeit des $P_{O_2 i}$ vom $P_{O_2 a}$ bei *Sipunculus nudus* mit den Ergebnissen, die von Mangum und Kondon (1975) und von Mangum und Carhart (1972) an *Phascolopsis gouldi* bzw. *Glycera dibranchiata* erarbeitet wurden, so fällt auf, daß bei diesen Tieren bei äußeren P_{O_2}-Werten von über 100 Torr ein Übergangsbereich erreicht ist. Nach den genannten Autoren und nach Mangum und van Winkle (1973) ist dies charakteristisch für kaum zirkulierende Coelomflüssigkeit. Im Vergleich mit *Sipunculus nudus* könnte dies die Bedeutung der Coelomkanäle bei der Versorgung des Coeloms mit Sauerstoff unterstreichen und/oder für eine ständige Bewegung der Coelomflüssigkeit sprechen, die wahrscheinlich auf die unter 3.4. geschilderte Atemperistaltik zurückzuführen ist.

In Abb. 86 ist der O_2-Verbrauch großer bzw. kleiner Tiere in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} und im Zusammenhang mit den im Coelom gefundenen P_{O_2}-Werten aufgetragen. Hier zeigt sich, daß der aus den Verbrauchskurven ermittelte kritische P_{O_2} (P_c) etwa in dem Bereich liegt, in dem auch bei fallendem äußeren P_{O_2} erstmals keine lineare Abhängigkeit des P_{O_2} im Coelom vom äußeren P_{O_2} mehr besteht. Im Bereich des P_c wird in der Coelomflüssigkeit großer Tiere ein P_{O_2} von ca. 6 Torr und

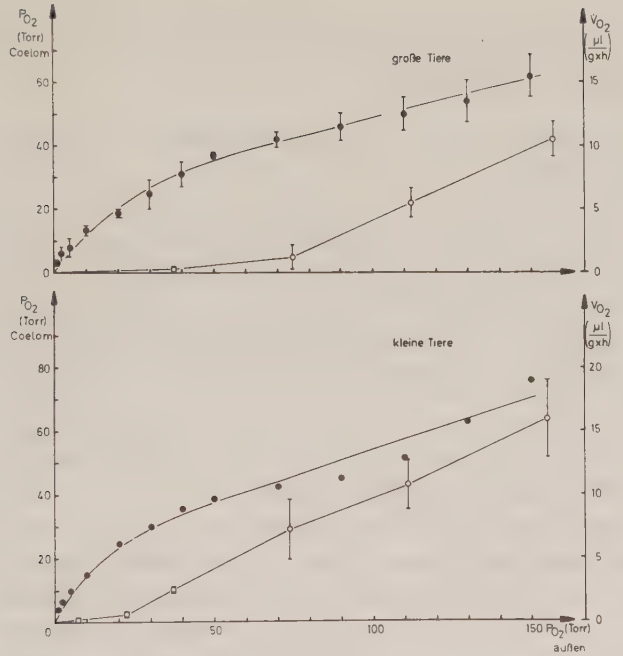


Abb. 86: Abhängigkeit des O_2-Verbrauches ($\dot{V}_{O_2}$, ●-●) und des P_{O_2} im Coelom (o-o) großer Tiere (oben) und kleiner Tiere (unten) vom P_{O_2} im Atemmedium ($P_{O_2\,außen}$), T = 15° C.

in der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere ein P_{O_2} von ca. 10 Torr unterschritten. Ein Vergleich der Kurven zeigt auch, daß der mit steigendem äußerem P_{O_2} zunehmende Sauerstoffverbrauch die Ursache dafür ist, daß das Verhältnis zwischen $P_{O_2\,i}$ und $P_{O_2\,a}$ nicht in einem Winkel von 45° steigt (s. Abb. 27, S. 114), sondern in einem kleineren Winkel.

Die Untersuchung der stationären Konzentrationen wesentlicher Metabolite des anaeroben Stoffwechsels ergab, daß bei fallendem P_{O_2} im Wasser erst unterhalb des P_c Konzentrationsänderungen dieser Metabolite auftreten. Bis zum P_c ist ein ausschließlich aerober Stoffwechsel möglich. Anaerobe Prozesse können bei fallendem P_{O_2} zuerst in inneren Geweben beobachtet werden. Aus Abb. 29, S. 116, ergibt sich, daß die Succinatbildung in den

Retraktoren kleiner Tiere bei P_{O_2}-Werten unterhalb von 9-10 Torr im Coelom einsetzt. Wie oben geschildert, wird dieser Wert im Coelom im Bereich des P_c erreicht.

Aus den bisherigen Überlegungen ergeben sich folgende Schlußfolgerungen:

1. Der P_c kann als der P_{O_2} definiert werden, bei dem die inneren Gewebe mit abnehmendem P_{O_2} im Wasser erstmals unzureichend mit Sauerstoff versorgt werden. Sobald eines der inneren Gewebe einen Teil seines Energiebedarfes mit Hilfe eines anaeroben Stoffwechsels decken muß, besteht keine lineare Beziehung des O_2-Verbrauches zum P_{O_2} im Wasser mehr.
2. Der P_c hängt von den Diffusionsverhältnissen im Tier und damit von der Körpergröße ab.

Nach diesen Überlegungen können die eingangs (S.238) gestellten Fragen für *Sipunculus nudus* dahingehend beantwortet werden, daß die Stoffwechselrate ausgehend von normoxen Bedingungen bis zum P_c direkt vom P_{O_2} im Wasser abhängt. Unterhalb des P_c setzt ein anaerober Stoffwechsel ein, über dessen Umsatzrate mit Hilfe der vorliegenden Ergebnisse keine quantitative Aussage möglich ist. Der P_c liegt bei großen Tieren in einem Bereich von 40-60 Torr und bei kleinen Tieren zwischen 20 und 40 Torr.

Der Sauerstoffverbrauch am P_c ist ein Maß für die Stoffwechselrate bzw. den Energieumsatz, der unter aeroben Bedingungen minimal möglich ist. Allerdings regulieren lebende Tiere ihren O_2-Bedarf in einem geringen Ausmaß (s.o.), so daß nur für die isolierte Muskulatur angenommen werden kann, daß der O_2-Verbrauch am P_c der minimalen aeroben Stoffwechselrate bei vollkommener Passivität entspricht.

Die Stoffwechselrate in der Muskulatur kleiner lebender Tiere liegt am P_c bei 1,58 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$. Bei langfristiger Anaerobiose wurde eine vergleichbar geringe Rate von 1,3 nmol $g^{-1}min^{-1}$ gefunden (s. Tab. 25, S. 227). Der aerobe ATP-Umsatz am P_c beträgt bei einer aeroben ATP-Ausbeute

von 39 mol ATP/mol Glykosyleinheiten 61,6 nmol $g^{-1}h^{-1}$, der anaerobe dagegen nur 6,9 nmol $g^{-1}min^{-1}$ (s. Tab. 26, S. 234). Demnach zeigen aerobe Tiere am P_c einen 9-mal größeren Energieumsatz als Tiere, die langfristig anaerob gehältert wurden.

Isolierte Muskulatur verbraucht bei einem P_c von 10 Torr 3,75 µl O_2 $g^{-1}h^{-1}$ bzw. 167 nmol O_2 $g^{-1}h^{-1}$. Dies entspricht einer Fluxrate in der Glykogenolyse von 0,46 nmol $g^{-1}h^{-1}$ bzw. einem ATP-Umsatz von 18 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Dieser ATP-Umsatz kommt dem genannten anaeroben Wert sehr viel näher, ist jedoch trotz fehlender Muskelaktivität immer noch 2-3-mal so groß wie im Hautmuskelschlauch anaerob gehälterter Tiere. Bei fehlendem Sauerstoff sind die Tiere anscheinend in der Lage, ihren Energiebedarf noch weiter zu drosseln als bei minimalem aerobem Stoffwechsel und bei Einstellung sämtlicher Aktivität zu erwarten gewesen wäre. Wie bereits geschildert, ist jedoch noch unklar, ob mit den untersuchten Metaboliten alle Vorgänge im anaeroben Energiestoffwechsel erfaßt sind (s. 4.1.1.b, S. 225). Die Möglichkeit, daß der minimale aerobe Stoffumsatz des isolierten Hautmuskelschlauches dem Umsatz des gleichen Gewebes im lebenden Tier bei langfristiger Anaerobiose entspricht, kann also nicht ausgeschlossen werden.

Zur Untersuchung der Abhängigkeit des Energiestoffwechsels vom P_{O_2} wurden lange Inkubationszeiten von 24 h und 48 h gewählt, um auch Änderungen erfassen zu können, die sich nur bei geringem Sauerstoffdefizit ergeben. Es stellte sich heraus, daß der Aspartatgehalt bereits bei einem P_{O_2} von 37,4 Torr im Hautmuskelschlauch nach 24 h geringfügig von 1,23 ± 0,17 auf 0,96 ± 0,02 µmol/g FG abgenommen und die Malatkonzentration unter diesen Bedingungen geringfügig von 0,067 ± 0,014 auf 0,086 ± 0,009 µmol/g FG zugenommen hatte. Alle anderen Metabolite des anaeroben Stoffwechsels, darunter auch das Phosphagen, zeigten dagegen bei diesem P_{O_2} noch keine Konzentrationsänderungen. Der Aspartatgehalt wurde zwar in den Retraktoren aufgrund geringer Extraktvolumina nicht bestimmt, jedoch läßt auch hier ein geringer Anstieg des Malatgehaltes von 0,059 ± 0,005 auf 0,093 ± 0,026 µmol/g FG auf eine geringe Metabolisierung von Aspartat schließen. Die frühe Metabolisierung von Aspartat könnte bedeuten, daß bei 37,4 Torr bereits ein geringes Defizit an Oxalacetat im Citratcyclus vorliegt, das

anaplerotisch aus dem Aspartatpool aufgefüllt wird, ohne daß es schon zu einer Akkumulation von Endprodukten des anaeroben Stoffwechsels kommt. Da die umgesetzten Mengen sehr gering sind und die Inkubation über einen relativ langen Zeitraum erfolgte, ist wahrscheinlich, daß die Verschiebung des Konzentrationsverhältnisses zwischen Aspartat und Malat Folge einer Verschiebung des Redox-Status zu einem reduzierten Zustand ist, der langfristig aufrechterhalten werden kann, ohne daß anaerobe Stoffwechselprodukte in nennenswertem Ausmaß akkumuliert werden.

Bei 15 Torr O_2 treten schließlich erstmals Konzentrationsänderungen anderer Metabolite des anaeroben Stoffwechsels im Hautmuskelschlauch auf. Succinat und Propionat werden gebildet, nicht jedoch Acetat. Aspartat wird nur in den ersten 24 h metabolisiert. Bei 15 Torr O_2 ist auch das Phosphagen erstmals von der Hypoxie betroffen. Der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin nimmt ab.

Die Konzentrationsänderungen von Succinat und Propionat erreichen jedoch nicht das Ausmaß, das sie bei vollständiger Anaerobiose zeigen. Ein geringer Succinatgehalt von 0,16 ± 0,02 µmol/g FG nach 24 h ermöglicht bereits eine Propionatanhäufung in Höhe von 0,46 ± 0,03 µmol/g FG. Die Malatkonzentration bleibt auf einem niedrigen Niveau von 0,090 ± 0,014 nach 24 h, bzw. 0,100 ± 0,014 µmol/g FG nach 48 h und zeigt damit ebenfalls an, daß die Beteiligung des anaeroben Energiestoffwechsels noch gering ist. Dies stimmt mit der Tatsache überein, daß den Sauerstoffverbrauchsmessungen zufolge bei 15 Torr der Bereich des P_c (20-40 Torr) noch nicht weit unterschritten ist. Die geringfügige Metabolisierung von Aspartat in der Zeit von 24 h bis 48 h bei 15 Torr läßt den Schluß zu, daß Succinat und Propionat in dieser Zeit aus der Glykogenolyse stammen. Die dazu notwendige Carboxylierung von Pyruvat ist demnach also auch dann möglich, wenn ein Teil des Energiebedarfes noch aerob gedeckt wird. Fraglich ist, ob ein partiell aerober und anaerober Stoffwechsel in allen Zellen stattfindet oder nur in den Zellen eines Gewebes, die schlecht mit Sauerstoff versorgt werden. Dabei ist entscheidend, ob die Fumaratreduktase auch

bei noch geringfügig vorhandenem Sauerstoff bereits die Umsetzung von Fumarat in Succinat katalysieren kann, wenn über den Citratcyclus angeliefertes NADH nicht mehr quantitativ vom Restsauerstoff oxydiert wird. Schöttler (1982) postuliert, daß die Aktivität der Cytochrom-Oxydase und die Aktivität der Fumaratreduktase sich gegenseitig ausschließen. Für den gesamten Hautmuskelschlauch kann jedoch eine abgestufte Antwort des Energiestoffwechsels auf hypoxe Zustände festgehalten werden. Die Umschaltung auf den anaeroben Stoffwechsel erfolgt also nicht nach dem Alles-oder-Nichts-Prinzip.

Bei einem O_2-Partialdruck von 7,5 Torr bilden die Tiere auch Acetat. Die Tatsache, daß Acetat bei fallendem P_{O_2} später als Propionat synthetisiert wird, unterstreicht die Hypothese, daß die Propionatsynthese Priorität bei der Energiegewinnung hat und die Acetatbildung bei steigendem anaeroben Energiebedarf hinzukommt (vergl. S. 227).

Die Retraktoren gewinnen bereits einen hohen Anteil ihrer Energie aus dem anaeroben Stoffwechsel, wenn die Tiere sich bei P_{O_2} = 15 Torr im Wasser befinden. Diese Aussage stützt sich zum einen darauf, daß die Malatkonzentration in den Retraktoren nach 24 h bei 15 Torr mit 0,181 ± 0,018 µmol/g FG doppelt so hoch lag wie im Hautmuskelschlauch (0,090 ± 0,014 µmol/g FG) und zum anderen darauf, daß in den Retraktoren unter diesen Bedingungen höhere Succinatkonzentrationen erreicht wurden als im Hautmuskelschlauch (1,17 ± 0,04 gegenüber 0,16 ± 0,02 µmol/g FG).

Obwohl der P_{O_2} im Coelom von Tieren, die sich bei 15 Torr O_2 im Wasser befinden, schon auf ca. 2 Torr abgesunken ist (vergl. Abb. 27, S. 114), kann die Succinatakkumulation in den Retraktoren bei weiterer Reduktion des äußeren Sauerstoffangebotes noch weiter gesteigert werden. Ein Maximum wurde nach 48 h bei einem äußeren P_{O_2} von 3,7 Torr und einem P_{O_2} im Coelom von nahe 0 Torr erreicht. Dies bedeutet aber, daß die Retraktoren das Sauerstoffangebot bei einem P_{O_2} von 2 Torr ausnutzen können, da sonst eine ebenso hohe Succinatakkumulation wie bei P_{O_2}-Werten nahe 0 Torr hätte auftreten müssen. Dieser Befund unterstreicht noch einmal, daß die Coelomkanäle des

Hautmuskelschlauches für die Diffusion des Sauerstoffes aus der Umgebung in das Innere des Tieres auch dann von Bedeutung sind, wenn der Hautmuskelschlauch bereits teilweise anaerob ist.

Die bisher erarbeiteten Ergebnisse zeigen, daß in *Sipunculus nudus* ein partiell anaerober und aerober Stoffwechsel möglich ist. Ähnliche Befunde wurden von Bayne und Livingstone (1977) sowie Livingstone (1978) an *Mytilus edulis*, Bayne et al. (1976) an *Mytilus californianus* und von Schöttler (1982) an *Arenicola marina* und *Nephthys hombergii* erhoben.

Interessanterweise unterscheidet sich die O_2-Abhängigkeit des anaeroben Stoffwechsels beim partiellen Oxykonformer *Sipunculus nudus* von der beim potentiellen Oxyregulator *Mytilus edulis*. *Mytilus edulis* reguliert den O_2-Verbrauch bis zu einem kritischen P_{O_2}, wenn das Tier unvermittelt in Medien mit niedrigerem P_{O_2} gebracht wird (Bayne, 1971; Taylor und Brand, 1975). Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels werden bereits bei P_{O_2}-Werten oberhalb des P_c angehäuft. Nach längerer Zeit der Adaptation an niedrige O_2-Partialdrucke (über Tage) stellt sich *Mytilus* auf die Hypoxie ein und reagiert mit einer höheren Effektivität der O_2-Aufnahme (vergl. Taylor und Brand, 1975). Die anaeroben Endprodukte werden abgebaut, der P_c sinkt (Livingstone und Bayne, 1977). Famme et al., (1981) schlossen aus kalorimetrischen Untersuchungen, daß ein anaerober Stoffwechsel schon bei geringer Erniedrigung des P_{O_2} von Bedeutung ist (s. a. Hammen, 1979, 1980). Allerdings scheinen die Autoren Tiere verwandt zu haben, die ihren O_2-Verbrauch mit fallendem P_{O_2} nicht regulierten. Der Gesamtenergieumsatz (anaerob + aerob) wurde jedoch bis zu einem bestimmten P_{O_2} aufrecht erhalten. Unterhalb dieses Wertes nahm der gesamte Energieumsatz und damit nicht nur der aerobe, sondern auch der anaerobe Stoffwechsel drastisch ab.

Im Gegensatz zu *Mytilus edulis* reduziert *Sipunculus nudus* (im Wasser liegend) seinen Energieumsatz mit fallendem P_{O_2} des Wassers, wobei der Stoffwechsel bis zu einem P_c aerob bleibt. Erst unterhalb des P_c werden Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels angehäuft. Die Anpassung der Tiere an stark

hypoxe Zustände ($P_{O_2} \ll P_c$) ist dagegen in dem Sinne mit dem Verhalten von *Mytilus edulis* vergleichbar, daß die Tiere nicht nur auf anaerobem Wege Energie bereitstellen, sondern auch ihre Stoffwechselrate drastisch weiter reduzieren.

4.1.2. Funktionsbedingte Anaerobiose

Die biotopbedingte Anaerobiose ist von der funktionsbedingten Anaerobiose zu unterscheiden (s. Einl.). Funktionsbedingte Anaerobiose liegt vor, wenn der Energiebedarf bei starker Muskelaktivität größtenteils anaerob gedeckt wird. Anaerob arbeitende Muskulatur besitzt in der Regel einen geringen Mitochondriengehalt, einen hohen Gehalt an Phosphagen und Phosphagenkinase (Beis und Newsholme, 1975; Zammit und Newsholme, 1976) und eine vergleichsweise hohe Kapazität der anaeroben Glykolyse. Anaerobe Muskelaktivität bedeutet jedoch in der Regel auch die Fähigkeit zu schnellen, extremen Aktivitätsausbrüchen, die im Gegensatz zu aerob arbeitender Muskulatur mit der Erschöpfung des anaeroben Muskelgewebes enden. Diese Aussagen beziehen sich generell auf die Muskulatur, die der Fortbewegung der Tiere dient. Im vorliegenden Kapitel soll überprüft werden, inwieweit diese allgemeinen Aussagen auch auf die Muskulatur von *Sipunculus nudus* übertragbar sind.

(a) O_2-Versorgung und Energiestoffwechsel bei Aktivität

Funktionsbedingte Anaerobiose ist nach den bisherigen Kenntnissen bei *Sipunculus nudus* durch den Abbau von Phospho-L-Arginin und die Akkumulation von Octopin charakterisiert (vergl. Grieshaber und Hitzemann, 1979). Der Anteil des anaeroben Energiestoffwechsels am Energieumsatz bei Aktivität sollte durch Messung der Konzentrationsänderungen dieser Metabolite quantitativ erfaßt werden können. Der Anteil des aeroben Energiestoffwechsels ist solange schwer zu erfassen, wie der Sauerstoffverbrauch der Tiere bei Aktivität nicht gemessen werden kann. Wenn die P_{O_2}-Werte der Coelomflüssigkeit ruhender und arbeitender Tiere verglichen werden, ist eine Aussage über den Anteil der Coelomflüssigkeit an der Sauerstoffversorgung möglich, da Veränderungen des P_{O_2} mit Veränderungen des Sauerstoffgehaltes in der Coelomflüssigkeit verbunden sind. Das Gleichgewicht zwischen P_{O_2} und prozentualer Sättigung des Haemerythrins stellt sich bei Grabtätigkeit mit abfallendem P_{O_2} entsprechend der O_2-Bindungskurve schnell ein (s. Abb. 46, S. 132). Da der Energiestoffwechsel nur an klei-

nen Tieren untersucht wurde, ist in diesem Zusammenhang auch nur die von diesen Tieren aus der Coelomflüssigkeit verbrauchte O_2-Menge interessant.

Bei intensiver Grabtätigkeit an der Sandoberfläche fällt der P_{O_2} im Coelom nicht so weit ab wie bei Grabtätigkeit im Sediment. Dies deutet darauf hin, daß bei Tieren, die Kontakt mit dem Seewasser haben, trotz intensiver Muskelarbeit noch eine beträchtliche Menge Sauerstoff in das Coelom diffundiert. Die O_2-Versorgung dieser Tiere aus dem Wasser ist also besser als bei den Tieren, die im Sediment graben. Der O_2-Gehalt im Coelom nimmt bei Aktivität erst bei ungenügender O_2-Versorgung von außen in wesentlichem Ausmaß ab. Dies ist für die Betrachtung der Funktionsweise des respiratorischen Systems von *Sipunculus nudus* von Bedeutung (s. S. 309ff.).

Die ungenügende O_2-Versorgung bei Grabtätigkeit im Sediment führt zu einem O_2-Verbrauch des Hautmuskelschlauches von 516 nmol $g^{-1}h^{-1}$ aus der Coelomflüssigkeit. Dieser O_2-Verbrauch entspricht einem ATP-Umsatz von 55,9 nmol $g^{-1}min^{-1}$ und einem Glykogenolyseflux von 1,43 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$. Die starke Abnahme des P_{O_2} zeigt, daß die Sauerstoffversorgung von außen unter diesen Bedingungen sicherlich gering ist. Vernachlässigt man daraufhin bei der Berechnung des ATP-Umsatzes (s. Tab. 27, S. 258) den O_2-Verbrauch aus der Umgebung, so werden 24,3 % des umgesetzten ATPs von der aeroben Glykogenolyse geliefert. Diese Zahl zeigt, daß *Sipunculus nudus* bei Grabtätigkeit im Sediment einen Teil der verbrauchten Energie aerob gewinnen kann, weil das Tier Sauerstoff im Coelom, also einen O_2-Vorrat, mit in die O_2-arme Umgebung nimmt. Der O_2-Vorrat wird innerhalb von ca. 45 min noch nicht völlig aufgebraucht. Diese Zeit reicht im Experiment jedoch aus, um im Sediment eine Atemhöhle fertigzustellen und so die weitere Sauerstoffversorgung zu sichern. Die Sauerstoffversorgung im Biotop wird in Kap. 4.2.1. ausführlich diskutiert. Eine ähnliche Analyse ist bei intensiver Grabtätigkeit an der Sandoberfläche nicht möglich, da hier nicht davon ausgegangen werden kann, daß die Tiere allein auf ihren O_2-Vorrat in der Coelomflüssigkeit angewiesen sind (s.o.). Um auch hier den

prozentualen Anteil der aeroben ATP-Gewinnung abschätzen zu können, sind Sauerstoffverbrauchsmessungen während der Grabtätigkeit erforderlich. Solche Messungen stehen jedoch noch aus.

(b) Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von Arbeit und Leistung

Sipunculus nudus wurde bereits von von Uexküll (1903) als der Prototyp eines hydraulisch arbeitenden Tieres beschrieben. Von Uexküll (1903) und Zuckerkandl (1950) konnten die Druckschwankungen messen, die fast allen Bewegungen des Tieres zugrunde liegen. Trueman und Foster-Smith (1976) vervollständigten die Beobachtungen zum Grabmechanismus von *Sipunculus nudus* unter Anwendung von Statham-Druckaufnehmern und cinematographischen Techniken. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte das Verhalten von *Sipunculus nudus* in Aktivitäts- und Ruhephasen ebenfalls mit Hilfe von Statham-Druckaufnehmern und mit Hilfe von photographischen Mitteln verfolgt werden. Auf diese Weise gelang es, die Beobachtungen der genannten Autoren zu ergänzen und einen tieferen Einblick in die Lebensweise des Tieres zu erlangen (s. 3.4.).

Die Druckaufzeichnung während der Aktivität erscheint auch als geeignet, bei vergleichender Betrachtung einen Anhaltspunkt für die von den Tieren geleistete Arbeit zu liefern. *Sipunculus* gehört wie z.B. *Priapulus* zu den unsegmentierten Coelomaten. Dies bedeutet, daß das gesamte Muskelsystem der Körperwand mehr oder weniger gleichmäßig an der Druckerzeugung im Coelom beteiligt ist (Trueman, 1975). Arbeitet man also den Hautmuskelschlauch eines nach der Grabtätigkeit erschöpften Tieres auf, so kann man davon ausgehen, daß alle Regionen des Hautmuskelschlauches (horizontale Betrachtung) an dieser Grabtätigkeit etwa gleich beteiligt waren. Eine unterschiedliche Beteiligung von Ring- und Längsmuskeln (vertikale Gewebeschichten) an der Druckerzeugung wurde bei dieser Betrachtung vernachlässigt, ist jedoch nicht ganz auszuschließen. Nach Berechnungen von Wells (1950) ist ein Druck, der in

der Coelomflüssigkeit erzeugt wird, auf Muskelspannungen zurückzuführen, die in der Cirkulärmuskulatur (ohne Unterstützung von außen, z.B. durch den Sand als Widerlager) etwa doppelt so groß sind wie in der Längsmuskulatur. Die Spannung, die ein Muskel erzeugen kann, ist der Fläche seines Querschnittes proportional (Chapman, 1950). Chapman (1958) stellte aufgrund der unterschiedlichen Durchmesser von Ring- und Längsmuskulatur für Anneliden fest, daß die Längsmuskulatur 10-mal so kräftig ist wie die Ringmuskulatur, und schloß daraus, daß maximale Druckerzeugung nur dann möglich ist, wenn die Ringmuskulatur vom umgebenden Sediment gestützt wird. Bei weiteren Untersuchungen an *Sipunculus* wäre es interessant, Unterschiede im Stoffwechsel zwischen Ring- und Längsmuskulatur herauszuarbeiten, zumal diese Muskeln nach den Daten von Trueman und Foster-Smith (1976) ebenfalls unterschiedliche Durchmesser aufweisen. Ein Unterschied in der enzymatischen Ausstattung konnte bei den vorliegenden Untersuchungen nicht festgestellt werden (s. 4.1.3., S. 290).

Die Retraktoren als ein weiterer Bestandteil der Muskulatur des *Sipunculus* sind bei der Grabtätigkeit isoliert zu betrachten. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß der Energieverbrauch in diesen Muskeln bei Grabtätigkeit nicht annähernd so groß ist wie im Hautmuskelschlauch (s. 4.1.3., S. 286). Die Kontraktion der Retraktoren ist auxotonischer Natur mit überwiegender isotonischer Komponente und daher mit geringem Kraftaufwand verbunden.

Der gemessene Druck gibt also Auskunft über die vom Hautmuskelschlauch erzeugte Kraft. Da alle Tiere, deren Stoffwechsel untersucht wurde, etwa gleich groß waren (kleine Tiere, s. 2.2.1.), kann davon ausgegangen werden, daß gleicher Druck auf die gleiche Kraft/g Muskulatur zurückzuführen ist. Die mit Hilfe der Kraft geleistete Arbeit (= Weg der Coelomflüssigkeit in den Introvert x Kraft, bzw. = vom Tier zurückgelegte Strecke x Kraft) wurde nicht gemessen. Damit kann auch keine direkte Aussage über die geleistete Arbeit/Zeiteinheit = Leistung gemacht werden. Postuliert wird, daß gleicher Druck die gleiche Leistung bewirkt. Der pro Zeiteinheit aufrecht-

erhaltene Druck ist damit der Leistung proportional, und das gemessene Integral Druck x Zeit ist proportional der von den Tieren geleisteten Arbeit. Dividiert man also das Integral durch die insgesamt benötigte Zeit, so erhält man mit dem Durchschnittsdruck einen Parameter für die durchschnittlich erbrachte Leistung.

Im untersuchten Bereich zeigt der Gehalt an Phospho-L-Arginin im Hautmuskelschlauch eine nahezu lineare Korrelation zur geleisteten Arbeit. Die Octopinbildung setzt dagegen erst bei intensiverer Arbeit verstärkt ein und läßt keine lineare Abhängigkeit von der geleisteten Arbeit erkennen. Damit erweist sich das Phosphagen als der zeitlich und funktionell primäre Energielieferant bei Aktivität (s. auch 4.1.2.c, S. 271).

Den Octopinwerten zufolge führt die Aktivität zu einer Steigerung des Glykogenolyseflusses. Da der Energiestoffwechsel an Tieren untersucht wurde, die im Sediment gruben, kann die Flußrate als Ruhewert angenommen werden, die sich aus dem O_2-Verbrauch im Sand befindlicher Tiere ergibt. Das Näherungsverfahren, das zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches der Tiere im Sand verwandt wurde, ist unter 4.2.1. noch zu diskutieren (s. S. 303). Aus dem O_2-Verbrauch der Tiere im Sand ergibt sich eine aerobe Flußrate der Glykogenolyse von 4,1 nmol $g^{-1}min^{-1}$.

Bei geringerer Arbeit (durchschnittlich 482 cm H_2O x min) erfolgte bereits ausgehend vom Ruhewert eine Steigerung der Glykogenolyserate. Eine Steigerung bis auf 5,4 nmol $g^{-1}min^{-1}$, also um den Faktor 1,31 (s. Tab. 20, S. 144) ergibt sich allein aus der Octopinbildung (s. Tab. 27, S. 258). Unter Einbeziehung des aus der Coelomflüssigkeit verbrauchten Sauerstoffes ergibt sich eine Steigerung um den Faktor 1,66 bis auf 6,8 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Da der P_{O_2} im Coelom in der gewählten experimentellen Situation - die Tiere graben im Sediment - bis auf Werte nahe 0 Torr sinkt, scheint eine Versorgung der Tiere mit Sauerstoff von außen sehr erschwert.

Bei einer intensiveren Arbeit von 1158 cm H_2O x min stieg auch die mit Hilfe der Octopinwerte berechnete Durchsatzrate der

Glykogenolyse weiter an. Der in Tab. 20, S. 144, angegebene Wert von 18,2 nmol $g^{-1}min^{-1}$ bezieht sich also zunächst ebenfalls auf die anaerobe Flußrate. Da die Tiere in der gewählten Situation - sie graben an der Sedimentoberfläche - Kontakt mit dem O_2-reichen Oberflächenwasser haben, ist der aerobe Anteil des Glykogenolyseflusses nicht abschätzbar. Der P_{O_2} im Coelom fällt nur bis auf Werte um 10 Torr, so daß der O_2-Speicher im Coelom bei möglicher Sauerstoffaufnahme aus dem Wasser kaum angegriffen wird.

Aus der Octopinbildung und dem Phosphagenumsatz läßt sich der Umsatz anaerob gebildeten ATPs ermitteln. Unter Ruhebedingungen im Sand ergibt sich aus dem O_2-Verbrauch ein Umsatz von 159,9 nmol ATP $g^{-1}min^{-1}$. Bei einer geleisteten Arbeit in Höhe von 482 cm H_2O x min stieg der Umsatz, berechnet aus der Octopinbildung, dem Phosphagenumsatz und dem O_2-Verbrauch aus der Coelomflüssigkeit um den Faktor 1,44 auf 230,4 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Bei 1158 cm H_2O x min erfolgte ausgehend vom aeroben Ruhewert eine Steigerung des ATP-Umsatzes mindestens um den Faktor 1,86 bis auf 298,6 nmol $g^{-1}min^{-1}$. Dieser Wert gibt nur den anaeroben ATP-Umsatz (auf der Grundlage von Octopinbildung und Phosphagenabbau) an, da aus den oben genannten Gründen hier die aerobe Bildungsrate nicht abgeschätzt werden kann. Eine Erhöhung des genannten Faktors um 1 auf 2,86 wäre schon zu erwarten, wenn bei Grabtätigkeit an der Sandoberfläche der O_2-Verbrauch konstant bleibt. Es wäre interessant zu untersuchen, in welchem Ausmaß die anaerobe Energieproduktion steigt, wenn die Tiere zu intensiver Grabtätigkeit unter anoxen Bedingungen gezwungen werden. Die unbekannte und schwer zu erfassende aerobe Komponente könnte so ganz ausgeschaltet werden.

Der Anteil der anaeroben Glykolyse am anaeroben ATP-Umsatz steigt nach den vorliegenden Ergebnissen leistungsabhängig an. Bei einer geleisteten Arbeit in Höhe von 482 cm H_2O x min ergibt sich ein Anteil von 9,2 %. Bei 1158 cm H_2O x min ergibt sich ein Anteil von 17,5 %. Dies steht im Einklang mit einer zunehmenden Bedeutung der anaeroben Glykolyse bei langfristiger Aktivität. Unter 4.1.2.c, S. 270f., wird diese Bedeutung der anaeroben Glykolyse vergleichend diskutiert.

Tab. 27: O_2-Verbrauch ($\dot{V}_{O_2}$, nmol/g x min), Glycogenolyseraten (nmol Glykosyleinheiten/g x min) und ATP-Umsatzraten (nmol/g x min) während einmaliger Grabtätigkeit (bis zur Fertigstellung einer Atemhöhle) und erschöpfender Grabtätigkeit. Als aerober Kontrollwert wurden die entsprechenden Daten ruhend im Sand liegender Tiere gewählt.
(Oct. = Octopin, PLA = Phospho-L-Arginin)

Bedingung	„Arbeit"	„Leistung"	Grabzeit	$\dot{V}_{O_2}$	Umsatzraten			
	(cm H_2O x min)	(cm H_2O)	(min)	($\frac{nmol}{g \times h}$)	Glykogen anaerob (Octopin)	Glykogen gesamt (Oct. + $\dot{V}_{O_2}$)	ATP anaerob (Oct. + PLA)	ATP gesamt (Oct. + PLA + $\dot{V}_{O_2}$)
Kontrolle	—	—	—	1474	—	4,1	—	159,9
Höhle fertig	482	10,6	45,6	≥ 516	5,4	≥ 6,8	174,5	230,4
∿ erschöpft	1158	17,3	67,3	?	18,2	?	298,6	?

In Tab. 27 sind die aus dem O_2-Verbrauch, der Octopinbildung und dem Phosphagenabbau ermittelten Flußraten der Glykogenolyse und ATP-Umsatzraten noch einmal zusammengestellt (vergl. Tab. 20, S. 144).

Wenn das Druck x Zeit-Integral ein Maß für die von den Tieren geleistete Arbeit ist, so sollte sich die Abhängigkeit des anaeroben Energiestoffwechsels von der Arbeit zweidimensional aufgliedern, zum einen in eine Abhängigkeit von der Höhe des Durchschnittsdruckes, der der durchschnittlichen Leistung entspricht, zum anderen in eine Abhängigkeit von der Zeit, über die eine Leistung aufrecht erhalten wird. Die Aufgliederung in die genannten Dimensionen scheint sich bei vorsichtiger Betrachtung der in Abb. 51, S. 145, aufgetragenen Mittel- und Einzelwerte zu bestätigen. Die Einzelwerte sind zur Veranschaulichung in Tab. 28 zusammengestellt.

Die Abhängigkeit des anaeroben Energiestoffwechsels von der Leistung zeigt sich z.B. bei einem Vergleich der Werte von Tier 4 und Tier 8. Bis zur Fertigstellung der Atemhöhle bildete Tier 4 bei einer Gesamtarbeit von 396 cm H_2O x min entsprechend 8,8 cm H_2O x 45 min kaum Octopin (0,05 µmol/g FG) und zeigte nur einen geringen Abfall des Quotienten [PLA]/[L-Arg] auf 6,61. Tier 8 hatte jedoch bei geringerer Gesamtarbeit von 347 cm H_2O x min mit einem höheren Durchschnittsdruck bzw. einer höheren Leistung von 11,2 cm H_2O in kürzerer Zeit (31 min) erheblich mehr Octopin gebildet (0,89 µmol/g FG). Der Quotient [PLA]/[L-Arg] war bis auf 3,77 gefallen.

Die von den Tieren 5, 6 und 7 erbrachten Leistungen lagen ebenfalls über dem bei Tier 4 gemessenen Wert. Tier 5 hatte dementsprechend bei 10,0 cm H_2O in 56 min 0,25 µmol/g FG Octopin gebildet, Tier 6 bei 9,4 cm H_2O in 48 min 0,29 µmol/g FG und Tier 7 bei 13,6 cm H_2O in 48 min 0,53 µmol Octopin/g FG. Bei etwa gleicher Grabzeit zeigte Tier 7 also aufgrund der höheren Leistung im Vergleich mit den Tieren 5 und 6 eine erhöhte Octopinbildung. Ein so hoher Wert wie bei Tier 8 wurde jedoch von Tier 7 trotz der höheren Leistung nicht erreicht. Der Quotient [PLA]/[L-Arg] fiel bei den Tieren 5, 6 und 7

Tab. 28: Gegenüberstellung von „Arbeit", „Leistung" und Veränderungen im Energiestoffwechsel. Auftragung der Einzelwerte aus Tab. 20, S. 144.

Bedingung	Tier	„Arbeit"	„Leistung"	Grabzeit	PLA	$\frac{[PLA]}{[L\text{-}Arg]}$	Octopin
		(cm H_2O x min)	(cm H_2O)	(min)	(µmol/g FG)		(µmol/g FG)
Kontrolle	1, 2, 3	—	—	—	52,09 ± 3,10	7,47 ± 0,86	0,10 ± 0,05
Höhle fertig	4	396	8,8	45	48,15	6,61	0,15
	5	562	10,0	56	42,67	5,18	0,35
	6	453	9,4	48	48,01	4,29	0,39
	7	651	13,6	48	41,15	4,55	0,63
	8	347	11,2	31	44,81	3,77	0,99
	$\bar{x}$ ± SD	482 ± 124	10,6 ± 1,9	45,6 ± 9,1	44,96 ± 3,13	4,87 ± 1,09	0,59 ± 0,29
∿ erschöpft	9	1038	18,5	56	31,91	1,54	2,0
	10	1159	16,1	72	39,98	2,88	3,14
	11	1276	17,3	74	34,68	3,95	2,20
	$\bar{x}$ ± SD	1158 ± 119	17,3 ± 1,2	67,3 ± 9,9	35,52 ± 4,10	2,79 ± 1,21	2,45 ± 0,61

ebenfalls nicht so stark wie bei Tier 8, sondern lag bei Werten von 5,18 (Tier 5), 4,29 (Tier 6) und 4,55 (Tier 7). Eine mögliche Erklärung könnte sein, daß Tier 8 vor Versuchsbeginn nicht vollständig erholt war.

Die Ursache für die Abhängigkeit des anaeroben Stoffwechsels von der durchschnittlichen Leistung liegt wahrscheinlich darin, daß die aerobe Energiegewinnung mit zunehmender Leistung immer weniger ausreicht, den Energiebedarf zu decken und daß mit steigendem Energieumsatz anaerobe Prozesse hinzugezogen werden.

Die Octopinbildung lag bei intensiver Grabtätigkeit höher als bei einmaliger Grabtätigkeit, begründet auf einem höheren Durchschnittsdruck bzw. einer höheren Leistung (17,29 ± 1,23 cm H_2O gegenüber 10,6 ± 1,9 cm H_2O), aber auch auf einer längeren Grabzeit (67,3 ± 9,9 min gegenüber 45,6 ± 9,1 min), also einer insgesamt höheren Arbeit. Die Abhängigkeit des anaeroben Energiestoffwechsels von der Zeit des Grabens zeigt sich deutlicher z.B. bei einem Vergleich von Tier 9 und Tier 10. Tier 9 bildete bei etwas höherem Druck (18,5 cm H_2O), aber kürzerer Zeit (56 min) weniger Octopin (1,9 µmol/g FG) als Tier 10 mit 16,1 cm H_2O, 72 min und 3,04 µmol/g FG. Hier könnte also bei etwas geringerer Leistung die längere Grabzeit von Tier 10 Ursache für die stärkere Octopinbildung sein. Je länger eine Leistung aufrecht erhalten wird, deren Energiebedarf die aerobe Energieproduktion übersteigt, desto mehr ATP muß auf anaerobem Wege bereitgestellt werden.

Der Quotient $[PLA]/[L\text{-}Arg]$ fiel jedoch bei Tier 9 mit 1,54 stärker ab als bei Tier 10 mit 2,88. Tier 11 besaß bei ebenfalls längerer Grabzeit (74 min) als Tier 9 (56 min) und einem Durchschnittsdruck von 17,3 cm H_2O nur einen geringfügig höheren Octopingehalt (2,2 µmol/g FG). Der Quotient $[PLA]/[L\text{-}Arg]$ lag bei Tier 11 mit 3,95 höher als bei Tier 9 (1,54) und Tier 10 (2,88). Dies zeigt, daß die hier diskutierte Hypothese, der zufolge die Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von der Arbeit zweidimensional, nämlich in eine Abhängigkeit von der Leistung und in eine Abhängigkeit von der Zeit aufgegliedert ist, experimentell noch weiter abgesichert

werden muß. Wie schon angedeutet, spielt eine Rolle, inwieweit eine aerobe Umsetzung von Pyruvat die Octopinbildung und den Abbau von Phospho-L-Arginin reduziert. Das Ausmaß der aeroben Energieproduktion ist unbekannt und kann bei jedem Tier unterschiedlich sein.

Komplizierend kommt hinzu, daß die Leistung der Tiere bei erschöpfender Grabtätigkeit zunehmend abfällt. In Abb. 87 ist diese Leistungsabnahme in Abhängigkeit von der Grabzeit bzw. von der Zahl der Grabzyklen graphisch dargestellt. In der

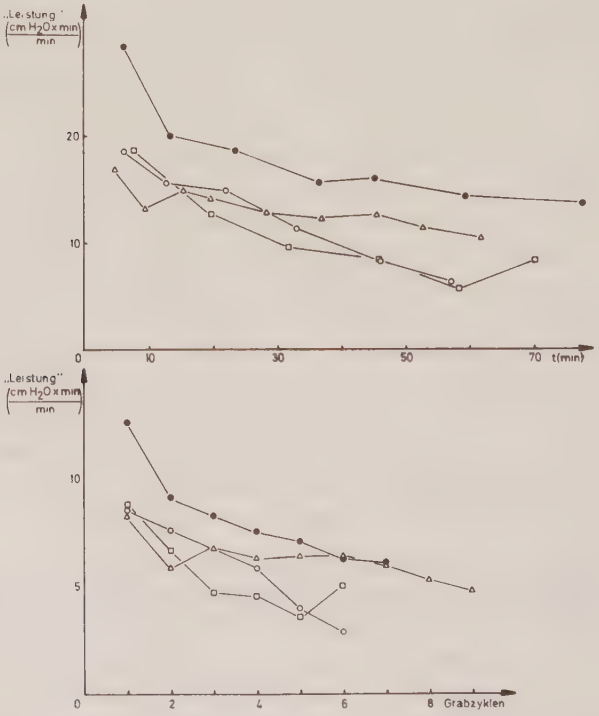


Abb. 87: Abhängigkeit der „Leistung" von der Dauer der Grabtätigkeit (oben) bzw. von der Zahl der Grabzyklen (unten). Jeder Punkt repräsentiert die mittlere „Leistung", die während eines Grabzyklus aufrechterhalten wurde. Jedes Symbol repräsentiert ein individuelles Tier.

Regel handelt es sich um eine kontinuierliche Leistungsabnahme. Ein exponentieller Verlauf ist nur bei einem Tier (●-●) angedeutet. Die Beziehung des Energiestoffwechsels zu diesem Leistungsabfall wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht, eine Diskussion dieses Problems erfolgt bei einer vergleichenden Betrachtung unter 4.1.2.c, S. 271f. Es ist wünschenswert, den Energiestoffwechsel von *Sipunculus nudus* in Abhängigkeit von der geleisteten Arbeit noch genauer zu untersuchen, als es im Rahmen der vorliegenden Arbeit geschehen konnte.

Insgesamt bietet die angewandte Methode der Druckaufzeichnung eine geeignete Möglichkeit, die Funktionsweise und Leistung des Hautmuskelschlauches am lebenden Tier im Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel zu untersuchen. Sie ist daher jeder Methode überlegen, die zwar die gleichen Parameter am isolierten Muskel untersucht, die aber in der Regel die physiologischen Bedingungen für den Muskel *in vivo* nicht reproduzieren kann.

(c) vergleichender Überblick

Untersuchungen zur funktionsbedingten Anaerobiose bei *Sipunculus nudus* wurden bereits von Grieshaber und Hitzemann (1979) durchgeführt. Die dabei gewonnenen Ergebnisse konnten im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen nachvollzogen werden. Wird *Sipunculus nudus* zu intensiver Grabtätigkeit bis zur Erschöpfung veranlaßt - als Erschöpfung wird der Zustand angesehen, in dem das Tier auf die Stimulation von außen nicht mehr reagiert - so wird im Hautmuskelschlauch das Phosphagen abgebaut und Octopin angehäuft. Einer Zunahme der Octopinkonzentration im Hautmuskelschlauch von 0,3 auf 7,5 µmol/g FG nach Grieshaber und Hitzemann stand in den vorliegenden Untersuchungen eine Zunahme von durchschnittlich 0,97 auf 9,07 µmol/g FG gegenüber. Der Gehalt an Phospho-L-Arginin nahm nach Grieshaber und Hitzemann um 16,1 gegenüber 13,3 µmol/g FG ab. Die Zunahme des Energieinhaltes im Hautmuskelschlauch, die nach den in Tab. 10, S. 84, aufgeführten Ergebnissen während des Grabens von 0,91 ± 0,01 auf 0,95 ± 0,02

erfolgte, scheint angesichts der Ergebnisse von Grieshaber und Hitzemann (1979) sowie der Abnahme des Energieinhaltes in den Retraktoren ein Artefakt zu sein. Bei weiteren Untersuchungen des Energiestoffwechsels bei Aktivität wurde ebenfalls keine Zunahme des Energieinhaltes im Hautmuskelschlauch gefunden (s. Tab. 19, S. 142).

Während der Grabtätigkeit traten außerdem Metabolitverschiebungen auf, die an die Anfangsphase einer biotopbedingten Anaerobiose erinnern. Der Aspartatgehalt nahm ab, der Malatgehalt nahm zu. Succinat zeigte ebenfalls eine geringfügige Konzentrationszunahme. Die flüchtigen Fettsäuren waren dagegen nicht betroffen. P_{O_2}-Messungen im Coelom ergaben, daß der P_{O_2} unter den hier gewählten experimentellen Bedingungen abnimmt. Es ist durchaus vorstellbar, daß bei stärkerem Sauerstoffverbrauch eine Sauerstoffmangelsituation im Gewebe entsteht, die Prozesse einleitet, welche für eine biotopbedingte Anaerobiose typisch sind. Wenn die Umsatzrate dieser Reaktionen nicht größer ist als bei biotopbedingter Anaerobiose und wenn man sich klar macht, daß der experimentelle Zeitraum bei einer funktionsbedingten Anaerobiose mit ca. 1 h ungleich kürzer ist, so kann schon aus zeitlichen Gründen keine Succinatgärung in dem Ausmaß stattfinden, wie es für die biotopbedingte Anaerobiose geschildert wurde. Unter diesen Umständen ist also bei Muskelaktivität nicht nur die Kapazität des aeroben Stoffwechsels limitierend für das Ausmaß der aeroben Energieproduktion, sondern auch die Sauerstoffversorgung der Muskelzellen aus den Körperflüssigkeiten.

Die Umsetzung von Aspartat könnte jedoch auch Anzeichen für eine Verschiebung des Redoxstatus oder für eine anaplerotische Anlieferung von Oxalacetat und die Erhöhung der Succinatkonzentration Anzeichen für die Erhöhung des Citratcyclusflusses sein. Allerdings ist bei langer Grabtätigkeit im anoxen Sediment die Succinatgärung deutlich beteiligt (s. S. 323). Sie setzt also generell ein, wenn den Mitochondrien kein O_2 mehr (oder zu wenig O_2) zur Verfügung steht. Vermutlich ist der biotopbedingte Anaerobiosestoffwechsel nicht nur unter dem

Aspekt einer effektiven Bereitstellung von Energie bei geringem Umsatz von Glykogen zu betrachten, sondern auch unter dem Aspekt, daß die Succinatgärung zur Erhaltung der Funktions- und Lebensfähigkeit der Mitochondrien beiträgt.

Die Zusammenstellung von Enzymaktivitäten und Metabolitspiegeln z.B. bei Zammit und Newsholme (1976) und Beis und Newsholme (1975) ermöglichen es, den Energiestoffwechsel von *Sipunculus nudus* mit dem anderer mariner Inverbetraten zu vergleichen. Es wurde bereits herausgestellt (s. S. 209f.) daß der Phosphagengehalt des Hautmuskelschlauches von *Sipunculus nudus* mit bis zu 52 µmol/g FG sehr viel höher liegt als in der Muskulatur sessiler fakultativer Anaerobier und in der gleichen Größenordnung bzw. teilweise sogar höher liegt als in der Muskulatur schnell beweglicher Invertebraten wie z.B. Cephalopoden und Pecteniden (vergl. Beis und Newsholme, 1975; sowie Livingstone, 1982). Letztere greifen für kurze, schnelle und intensive Aktivitätsausbrüche auf einen anaeroben Stoffwechsel zurück. Im Vergleich dazu zeigen strikt aerob arbeitende Muskeln wie der Insektenflugmuskel ebenso niedrige Phosphagenkonzentrationen wie die Muskeln der sessilen fakultativen Anaerobier (Beis und Newsholme, 1975). Unter den Mollusken deckt z.B. *Limaria fragilis* ihren Energiebedarf bei kontinuierlicher Aktivität durch aerobe Prozesse und weist daher mit 1,2 µmol/g FG einen geringen Gehalt an Phospho-L-Arginin auf (Baldwin und Lee, 1979). Eine hohe Phosphagenkonzentration könnte also immer dann vorliegen, wenn die Kapazität der übrigen ATP-bildenden Stoffwechselwege nicht ausreicht, den Energiebedarf bei Aktivität zu decken. Ein niedriger Mitochondriengehalt (de Eguileor und Valvassori, 1977; Reger, 1964) und eine hohe Phosphagenkonzentration sind demnach auch bei *Sipunculus nudus* ein sicheres Indiz dafür, daß das Tier während der Aktivität in großem Ausmaß auf anaerobe Energiebereitstellung angewiesen ist. Die folgenden Überlegungen müssen zeigen, welche weiteren Gemeinsamkeiten und welche Unterschiede zu den genannten Tieren mit hoher anaerober Leistungskapazität bestehen.

Wie der Phosphagengehalt, so liegt auch die Konzentration der Phosphagenkinase mit 437 U/g FG im Hautmuskelschlauch bzw. 687 U/g FG in den Retraktoren in einer Größenordnung, die ebenfalls bei schnell beweglichen Mollusken wie Pecteniden und Arten der Gattung *Loligo* zu beobachten ist (Zammit und Newsholme, 1976; Vollmer et al., 1981; vergl. S. 211). Das Phosphagen hat nicht nur als quantitative Reserve energiereichen Phosphates Bedeutung, sondern eine hohe Phosphagenkonzentration verbunden mit einer hohen Konzentration an Phosphagenkinase weist auch auf die Wichtigkeit einer schnellen Verfügbarkeit des Phosphagens hin. Übereinstimmend damit handelt es sich bei den Phosphagenkinasen offensichtlich um Gleichgewichtsenzyme, die eine Verschiebung des Gleichgewichtes durch Abnahme der ATP-Konzentration rasch ausgleichen können (Beis und Newsholme, 1975). Eine schnelle Reaktionsfähigkeit der Muskulatur könnte für *Sipunculus nudus* z.B. dann wichtig werden, wenn im Sediment Verschiebungen auftreten, die zu starken Scherkräften führen. Diesen Scherkräften kann das Tier nur durch eine rasche Erhöhung des Binnendrucks im Coelom und einer damit verbundenen Verfestigung seines Körpers Widerstand leisten. Hinzu kommt die Notwendigkeit einer raschen und intensiven Grabtätigkeit, wenn das Tier z.B. freigeschwemmt wird.

Das Phosphagen ist aber bei *Sipunculus nudus* sicherlich nicht nur als Reserve für Notsituationen anzusehen, sondern spielt auch dann eine Rolle, wenn das Tier zur Nahrungsaufnahme im Sediment gräbt (Hyman, 1959; s. Kap. 3.4.). Die Atemhöhle hat also für *Sipunculus nudus* immer nur provisorischen Charakter. Bei der Nahrungsaufnahme bewegt der Wurm sich oft in anaerobem Sediment, so daß er während dieser Zeit zur Energiegewinnung auf das Phosphagen und die anaerobe Glykolyse angewiesen ist. Diese Lebensweise steht z.B. im Gegensatz zu der von *Arenicola marina*. Der Pierwurm hat einen permanenten Bau, in dem er sich sowohl mit sauerstoffhaltigem Wasser als auch mit Nahrung versorgt (Krüger, 1971).

Die Bedeutung des Phosphagensystems für *Sipunculus nudus* erscheint um so größer, wenn man berücksichtigt, daß die Aktivität der Phosphorylase im Hautmuskelschlauch um den Faktor 7-10 niedriger liegt als z.B. im phasischen Teil des Adduktors von *Pecten maximus* bzw. im Mantel von *Loligo* (vergl. Zammit und Newsholme, 1976), allerdings nur um den Faktur 2 niedriger als im phasischen Adduktor von *Placopecten magellanicus* (de Zwaan et al., 1980). Nach Newsholme und Start (1973), Newsholme et al.(1978b), Newsholme und Crabtree (1979) ist die Phosphorylase im Zusammenwirken mit der Phosphofructokinase das regulatorisch fluxgenerierende Enzym der Glykogenolyse. Dies gilt für *Sipunculus nudus* auch insofern, als hier die Phosphorylase eine erheblich niedrigere Aktivität aufweist als die Phosphofructokinase (s. Tab. 12, S. 89). Die Bestimmung der Maximalaktivität der Phosphorylase sollte nach den genannten Autoren eine Aussage über die maximale Durchflußrate durch die Glykogenolyse erlauben. Für *Sipunculus nudus* ist bei Aktivität daher ein geringerer Beitrag der anaeroben Glykogenolyse zur ATP-Gewinnung zu erwarten als bei den anderen oben genannten Arten.

Bei funktionsbedingter Anaerobiose sollte aus der Produktionsrate von Octopin angenähert ermittelt werden können, ob die maximale Durchflußrate tatsächlich erreicht wird. Nach erschöpfender Grabtätigkeit wurde in einem Experiment eine Octopinkonzentration im Hautmuskelschlauch von 2,45 ± 0,61 µmol/g FG erreicht (s. Tab. 19, S. 142). Die anaerobe Durchflußrate betrug demnach 18,2 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$(s. Tab. 27, S. 258). Der Sauerstoffverbrauch bei Aktivität konnte in diesem Experiment nicht ermittelt werden (s.o., S. 253). Wenn er bei Grabtätigkeit an der Sedimentoberfläche mindestens dem O_2-Verbrauch unter Ruhebedingungen im Sand entspricht, so ergibt sich ein minimaler Glykogenolyseflux von 22,3 nmol Glykosyleinheiten $g^{-1}min^{-1}$. Die gefundene Maximalaktivität der Phosphorylase beträgt 0,84 µmol $g^{-1}min^{-1}$ bei 25 °C. Übereinstimmend mit Newsholme und Start (1973) wird vorausgesetzt, daß die mit AMP erreichbare Maximalaktivität *in vitro* der maximal möglichen Gesamtaktivität der Phosphorylase entspricht. Berücksichtigt man nach Zammit und Newsholme (1976) einen Q_{10}

von 2 und berechnet 0,42 µmol $g^{-1}min^{-1}$ für die Versuchstemperatur von 15 °C, so zeigt sich eine große Diskrepanz zwischen theoretisch erreichbarer und tatsächlich erreichter Durchflußrate (5,3 % der theoretisch erreichbaren Rate).

Bei dem ersten Experiment zur funktionsbedingten Anaerobiose (durchgeführt in Roscoff kurz nach dem Sammeln der Tiere) wurden im Hautmuskelschlauch mit durchschnittlich 9,1 µmol/g FG sehr viel höhere Octopinwerte erreicht (s. Tab. 10, S. 84). Leider wurde in diesem Experiment die Grabzeit nicht genau verfolgt. Sie lag jedoch unter 1 h, so daß eine Flußrate von mindestens 0,15 µmol $g^{-1}min^{-1}$ (bei 17 °C) bzw. 29 % der erwarteten Rate resultiert. Die Diskrepanz zwischen tatsächlich erreichter und theoretischer Glykogenolyserate fiel in diesem Experiment also geringer aus. Eine denkbare Ursache ist der bessere Ernährungszustand der Tiere - das Experiment wurde kurz nach dem Sammeln durchgeführt - oder die Tatsache, daß die länger gehälterten Tiere des oben analysierten Experimentes eine höhere Phosphagenkonzentration im Hautmuskelschlauch besaßen (s.u., S. 270).

Ein Unterschied zwischen theoretisch möglicher und tatsächlich erreichter Glykogenolyserate läßt sich z.B. nicht für *Placopecten magellanicus* feststellen, wenn man die Ergebnisse von de Zwaan et al. (1980) und Livingstone et al. (1981) betrachtet. Die Aktivität der Phosphorylase wurde mit 1,7 U/g FG bei 25 °C bestimmt. Die Versuchstemperatur betrug dagegen 5 °C. Berücksichtigt man einen Q_{10} von 2, so stimmen der theoretische Wert (0,43 µmol $g^{-1}min^{-1}$) und der Maximalwert des Glykogenolyseflusses (0,58 µmol $g^{-1}min^{-1}$) etwa überein.

In den Experimenten von Kreutzer (1982) erreichte die Octopinbildung in den Retraktoren ebenfalls nicht die *in vitro* gefundene Umsatzrate der Phosphorylase (0,37 ± 0,14 U/g FG bei 25 °C). Die Diskrepanz zwischen dem theoretisch zu erwartenden und dem tatsächlich gefundenen Fluß fiel jedoch im isolierten Retraktor unter den gewählten Bedingungen (isometrische Kontraktionen, 60 min, 360 Kontraktionen, Reiz 25 V x 1 msec) geringer aus als im Hautmuskelschlauch. Die gebildete Octopinmenge von durchschnittlich 4,59 µmol/g FG kommt einer anaeroben Umsatz-

rate des Glykogens von 38,3 nmol $g^{-1}min^{-1}$ gleich. Dies entspricht 20 % der bei 15 °C zu erwartenden Umsatzrate von 0,19 µmol $g^{-1}min^{-1}$. Die genannte Umsatzrate wurde nach 5 min erreicht und blieb unter den gewählten Bedingungen mehr oder weniger konstant. Bei dieser Betrachtung konnte nicht berücksichtigt werden, in welchem Ausmaß der aerobe Energiestoffwechsel des isolierten Muskels Pyruvat verbraucht und ATP für die Aktivität bereitstellt. Weitere Experimente müssen zeigen, ob die theoretische Durchflußrate bei *Sipunculus nudus* überhaupt erreicht werden kann oder ob weitere Endprodukte der anaeroben Glykolyse existieren, deren Bildungsrate dem gefundenen Differenzbetrag entspricht. Denkbar wäre eine Akkumulation weiterer Opine wie Strombin und/oder Alanopin (s. Einl.), deren Bildung bei *Sipunculus nudus* bisher noch nicht widerlegt werden konnte, die dann jedoch in weitaus größerem Ausmaß akkumuliert werden müßten als Octopin.

Geht man davon aus, daß die Octopinbildung und damit der Glykogenumsatz u.a. durch den Energieinhalt kontrolliert wird (Atkinson, 1977), so scheint erklärlich, warum bei *Sipunculus nudus* keine so starke Steigerung der Octopinsynthese wie bei *Placopecten* (s.o.) erfolgt. Der Energieinhalt fällt während der Aktivität nicht auf die Werte ab, die bei Pecteniden gefunden werden (0,76 bei *Placopecten*, Livingstone et al., 1981; 0,33 bei *Chlamys opercularis*, Grieshaber, 1978). Außerdem erfolgt im Hautmuskelschlauch kein wesentlicher Anstieg der AMP-Konzentration, der ebenfalls zur Aktivierung der Phosphorylase beitragen könnte (s. Tab. 10, S. 84). Diese Überlegungen müssen jedoch in dem Fall noch einmal überprüft werden, wenn Octopin nicht das alleinige Produkt der Glykolyse bei funktionsbedingter Anaerobiose ist.

Berechnet man die ATP-Menge, die bei der Octopinbildung und beim Phosphagenabbau gebildet wird (1,5 mol ATP/mol Octopin, 1 mol ATP/mol Phospho-L-Arginin), so stammten beim ersten Experiment zur erschöpfenden Grabtätigkeit (s. Tab. 10, S. 84) im Hautmuskelschlauch 12,15 µmol/g FG ATP aus dem Octopin und ca. 13,3 µmol ATP aus dem Phosphagen. Die ATP-Bildung aus der Succinatgärung ist vernachlässigbar klein. Adenylatkinase-

reaktion und ATP-Abbau spielen für den ATP-Umsatz bei Aktivität ebenfalls keine Rolle. Bei insgesamt 25,45 µmol umgesetzten ATPs beträgt der Beitrag der Octopinbildung an der Regenerierung von ATP 47,7 %. Bei einem weiteren Experiment (s. Tab. 19, S. 142) reduzierte sich der Anteil des ATPs aus der Octopinsynthese auf 17,5 % des bereitgestellten ATPs. Allerdings wurden in diesem Experiment mit 20,10 µmol ATP ca. 20 % weniger ATP aus akkumuliertem Octopin und abgebautem Phosphagen umgesetzt als im ersten Experiment. Außerdem lag mit 52,1 µmol/g FG eine um 22 µmol/g FG höhere Ausgangskonzentration an Phospho-L-Arginin vor. Diese hohe Phosphagenkonzentration wurde bereits als Folge einer langen ununterbrochenen Aerobiose diskutiert (s. 4.1.1.a, S. 208). Hier liegt die Vermutung nahe, daß eine hohe Phosphagenkonzentration einen „Spareffekt" auf den Glykogenstoffwechsel hat. Auch für die biotopbedingte Anaerobiose ließ sich ein verminderter Umfang der Succinatgärung durch eine hohe Phosphagenkonzentration und einen dementsprechend hohen Umsatz des Phosphagens erklären (s. S. 213). Storey (1976 und 1981) und Wu et al. (1979) diskutierten einen hemmenden Effekt von Phospho-L-Arginin auf die Glykolyse. Allerdings konnte eine Hemmung der Phosphofructokinase durch Phospho-L-Arginin, die noch von Gäde et al. (1978) für den Adduktor von *Pecten maximus* postuliert wurde, von Ebberink et al. (1981) für die Phosphofructokinase des phasischen Adduktors von *Placopecten magellanicus* widerlegt werden.

Bei Spezialisierung auf kurze Aktivitätsphasen könnte im Extremfall resultieren, daß eine anaerobe Glykolyse überflüssig wird. Anzeichen hierfür lassen sich z.B. aus den Ergebnissen von Pelster (1982) ableiten, die an *Branchiostoma lanceolatum* erarbeitet wurden. *Branchiostoma* zeigt bei Aktivität keine wesentliche Laktatbildung, sondern gewinnt nach Pelsters Ergebnissen sämtliches anaerob gebildetes ATP aus dem Phosphagen. Wenn die Phosphagenreserven verbraucht sind, stellt das Tier die Aktivität ein. Letzteres wurde in mehr oder weniger starker Ausprägung auch bei verschiedenen Pecteniden beobachtet (s. z.B. Grieshaber, 1978; de Zwaan et al., 1980; Livingstone et al., 1981; zusammengefaßt bei Gäde, 1980a).

Der Anteil des glykogenolytisch gebildeten ATPs hängt jedoch nicht nur von der Größe des Phosphagenvorrates ab, sondern auch von der Intensität und Dauer der Muskelbewegung. Unter 4.1.2.b, S. 254ff., wurde die Abhängigkeit des Energiestoffwechsels von der geleisteten Arbeit diskutiert. Bei einer Arbeit von 482 cm H_2O x min wurden 7,87 µmol ATP/g FG aus der Octopinbildung und dem Abbau von Phospho-L-Arginin geliefert. Davon stammten 9,3 % aus der Akkumulation von Octopin. Bei einer Arbeit von 1158 cm H_2O x min stieg der Anteil des ATPs aus der Octopinsynthese auf 17,5 %. Kreutzer (1982) fand bei isometrischer Kontraktion der Retraktoren (6 Kontraktionen/min, Reizstärke 25 V x 1 msec) in den ersten 2,5 min einen Anteil der Octopinsynthese an der ATP-Bildung von 1,5 %. Dieser Anteil stieg nach 60 min bis auf 26,3 % bei einer insgesamt aus dem akkumulierten Octopin und dem Phosphagen stammenden ATP-Menge von 26,15 µmol/g FG. In den ersten 2,5 min wurden 49,3 % des insgesamt umgesetzten Phosphagens metabolisiert. Der Kraftabfall verlief exponentiell, d.h., die ersten, kräftigsten Kontraktionen wurden im wesentlichen vom Phosphagen „finanziert". Diese Resultate stehen im Einklang mit der Überlegung, daß eine hohe Phosphagenkonzentration erste kräftige und effektive Bewegungen erlaubt und damit die Reaktionsfähigkeit des Organismus erhöht.

Die Octopinbildung gewinnt dagegen erst nach weitgehendem Umsatz des Phospho-L-Arginins an Bedeutung für die ATP-Synthese. Sie dient wahrscheinlich einer Kontinuität der Bewegung, nachdem das Tier sich schnell aus einer potentiellen Gefahrenzone gebracht hat. Die zeitliche Intensität der Aktivität und damit der ATP-Verbrauch sind dabei verglichen mit der Anfangsphase der Bewegungen reduziert. Die zeitliche Intensität der Bewegungen konnte durch Aufzeichnung der Aktivität bei erschöpfendem Graben verfolgt werden. Abb. 87, S. 262, zeigt, daß die Leistung der Tiere während intensiver Grabtätigkeit kontinuierlich abnimmt. Ein exponentieller Leistungsabfall konnte in der Regel nicht gefunden werden, erscheint aber auch im Hinblick auf eine längerfristige Grabtätigkeit des Tieres im Sediment nicht sinnvoll. Untersuchungen über den Verlauf der Veränderungen im Energiestoffwechsel nach einer unter-

schiedlichen Anzahl von Grabzyklen liegen noch nicht vor. Die bisherigen Erörterungen lassen jedoch darauf schließen, daß die ersten, kräftigsten Grabbewegungen wesentlich vom Phosphagen getragen werden und daß der Anteil der anaeroben Glykogenolyse bei fortgesetztem Graben zunimmt.

In welchem Ausmaß bei intensiver Aktivität auch der aerobe Energiestoffwechsel für *Sipunculus* eine Rolle spielt, kann bisher noch nicht abgeschätzt werden. Hierfür sind Sauerstoffverbrauchsmessungen bei Aktivität erforderlich. Bei Grabtätigkeit im Sediment bedeutet die Ermittlung des O_2-Verbrauches aus der Coelomflüssigkeit eine experimentelle Annäherung, die bereits unter 4.1.2.a, S. 253, diskutiert wurde. Der P_{O_2} im Coelom sinkt während der Grabtätigkeit im Sediment bis auf Werte nahe 0 Torr (s. Tab. 18, S. 134). Dies deutet darauf hin, daß eine fortgesetzte Grabtätigkeit im anoxen Sediment wahrscheinlich nur noch mit Hilfe der anaeroben Glykogenolyse ermöglicht werden kann. In dieser Zeit könnte also auch die Succinatgärung in größerem Ausmaß zur ATP-Bildung beitragen.

Die vergleichsweise geringe Phosphorylaseaktivität bzw. Durchsatzrate der Glykogenolyse während der Aktivität von *Sipunculus nudus* wurde bereits erwähnt (s. S. 267). Daraus wurde auf eine hohe relative Bedeutung des Phosphagensystems geschlossen. *Sipunculus nudus* verfügt jedoch über eine vergleichsweise hohe Aktivität der Octopindehydrogenase, die bei funktionsbedingter Anaerobiose eine Schlußreaktion der anaeroben Glykogenolyse katalysiert. Die Aktivität des Enzymes liegt im Hautmuskelschlauch bei 436 U/g FG. Der höchste Gehalt an Octopindehydrogenase wurde in der Längsmuskulatur mit 526 ± 70 U/g FG gefunden. Aus den Angaben von Haas et al. (1973) läßt sich für den Hautmuskelschlauch eine Aktivität von 826 U/g FG berechnen. Im Vergleich dazu liegen bei weniger aktiven Mollusken wie den Gastropoden *Littorina* (Fußretraktor) 4,8 U/g FG, *Buccinum* (Radularretraktor) 23,3 U/g FG und *Patella* (Radularretraktor) 1,4 U/g FG vor (Zammit und Newsholme, 1976). Pectiniden als schwimmende Bivalvier besitzen im Adduktor Aktivitäten von 29,5 U/g FG (*Pecten maximus*, Zammit und Newsholme, 1976) oder 21,9 U/g FG (*Chlamys opercularis*, de Zwaan et al., 1981c). Bei den aktivsten Mollusken, den Cephalopoden, reicht der Gehalt an Oc-

topindehydrogenase im Mantel von 39,2 U/g FG (*Sepia officinalis*, de Zwaan et al., 1981c; vergl. dagegen 99,8 U/g FG, Storey, 1977b) bis 132 U/g FG (*Loligo opalescens*, Ballantyne et al., 1981) und 146,5 U/g FG (*Loligo forbesi*, Zammit und Newsholme, 1976). Die Aktivitäten liegen dabei in der mittleren Mantelmuskulatur mit 182 U/g FG bei *Loligo opalescens* am höchsten (Mommsen et al., 1981). Der Herzmuskel verschiedener Mollusken hat ebenfalls einen hohen Gehalt an Octopindehydrogenase: 282,9 U/g FG im Ventrikel von *Busycon contrarium* (Ellington, 1981), 103,0 U/g FG im Herz von *Sepia officinalis* (Storey, 1977b), 64 U/g FG bei *Loligo opalescens* (Ballantyne et al., 1981). Oft tritt die Octopindehydrogenase dabei zusammen mit anderen Opindehydrogenasen auf (de Zwaan et al., 1981c).

Bei Betrachtung dieser Zusammenhänge könnte man vermuten, daß die Octopindehydrogenase zunächst einmal dort in hohen Konzentrationen vorliegt, wo sie während der Muskelaktivität eine wichtige Rolle bei der anaeroben Energiegewinnung spielt. Dies würde bei Cephalopoden zutreffen (Grieshaber und Gädem 1976), nicht aber mehr bei Pecteniden, bei denen die Octopinbildung anscheinend erst in der Erholung eine wesentliche Rolle spielt (Grieshaber, 1978). Für *Sipunculus nudus* wurde bisher trotz des hohen Gehaltes an Octopindehydrogenase eine geringere Bildungsrate des Octopins als bei anderen Mollusken erarbeitet. Es ist allerdings denkbar. daß Situationen existieren, in denen der Energieinhalt als ein möglicher regulatorischer Parameter für den Glykogenolysefluß (Atkinson, 1977) sehr viel stärker beansprucht wird und dadurch eine höhere Durchflußrate bewirkt werden kann. Eine deutlichere Beanspruchung des Energieinhaltes ist z.B. bei simuliertem Niedrigwasser festzustellen (s. Abb. 54, S. 151).

Vergleichend ist die hohe Enzymkonzentration auf jeden Fall schwer erklärbar. Denkbar wäre, daß die hohe Kapazität der Octopinbildung ein Indiz für die Wichtigkeit der anaeroben Glykogenolyse in einem O_2-armen Lebensraum ist, in dem Aktivität auch nach Verbrauch des kurzfristig bereitstehenden Phosphagens möglich bleiben muß.

Für *Sipunculus nudus* wurde bisher eine integrierte, aber zeitlich gegeneinander verschobene Funktion von Phosphagen und Octopinbildung bei der ATP-Bildung beschrieben. Eine analoge

Funktionsverteilung konnte für Creatinphosphat und Laktat im anaeroben Skelettmuskel gefunden werden (Mensch: Karlsson und Saltin, 1970; Karlsson, 1971; Amphibien: Curtin und Woledge, 1979; Fische: Driedzic et al., 1981). Sie tritt bezogen auf Phospho-L-Arginin und Octopin z.B. auch bei Cephalopoden (Grieshaber und Gäde, 1976; Storey und Storey, 1979b; Hochachka et al., 1978) und *Buccinum undatum* (Koormann und Grieshaber, 1980) auf.

Eine Ausnahme bilden dagegen anscheinend die Pecteniden *Pecten maximus* (Gäde et al., 1978), *Chlamys opercularis* (Grieshaber, 1978) und *Placopecten magellanicus* (Livingstone et al., 1981). Während der kurzen Aktivitätsperiode (Schwimmen) tritt bei diesen Tieren kaum Octopinbildung auf, während die Energie für die Schwimmbewegungen ausschließlich vom Phosphagen geliefert wird. Livingstone et al. (1981) fanden eine nahezu lineare Abhängigkeit der hydrolysierten Phospho-L-Arginin-Menge von der Zahl der Schwimmbewegungen. Die ATP-Synthese durch die Octopinbildung war während der Aktivitätsperiode vernachlässigbar gering und spielte erst in der folgenden Erholungsphase eine größere Rolle. Nach der Auffüllung des Energieinhaltes wurde das angehäufte Octopin metabolisiert und der größte Teil des Phospho-L-Arginins resynthetisiert. Für Octopinmetabolisierung und Phosphagenresynthese besteht eine Abhängigkeit von der Sauerstoffversorgung (Grieshaber, 1978; Livingstone et al., 1981). Die Funktion der Octopingärung liegt hier offensichtlich in einer raschen Auffüllung des bei Aktivität abgesunkenen Energieinhaltes. Diese Ergebnisse lassen es jedoch nicht zu, auf eine weitgehende Desintegration zwischen Phosphagenumsatz und Octopingärung zu schließen. Die auch für *Sipunculus* beschriebene zeitliche Verschiebung im Ablauf beider Prozesse wird hier nur noch deutlicher, da die untersuchten Tiere nach Abbau des Phospho-L-Arginins (nach 30 bis 50 Schlägen, Livingstone et al., 1981; Grieshaber, 1978) ihre Aktivität einstellen. Die Octopinbildung kann in dieser sehr kurzen Zeit (2 min nach Livingstone et al.) nicht (Grieshaber, 1978) oder in geringem Ausmaß erfolgen (Livingstone et al., 1981). Immerhin geben Livingstone et al. für die Zeit des Schwimmens eine 58fache Steigerung der Glykolyserate an. Quan-

titativ kann sich die Octopinbildung dann natürlich erst in dem wesentlich längeren Zeitraum der Erholung auswirken. Die Trennung der Funktionen von Phospho-L-Arginin und Octopinbildung in Pecteniden ist also allein durch das Verhalten der Tiere bedingt. Das starke Absinken des Energieinhaltes, das während der kurzfristigen Aktivität immerhin bis auf 0,33 erfolgen kann (Grieshaber, 1978), macht anscheinend eine Octopinbildung nach Beendigung der Aktivität erforderlich oder ist, wie bereits diskutiert, sogar die regulatorische Ursache für einen erhöht bleibenden Glykolyseflux (vergl. Livingstone et al., 1981; de Zwaan et al., 1980). Unter unphysiologischer Belastung (42 Kontraktionen an der Luft, s. Grieshaber und Gäde, 1977 an *Pecten jacobaeus* bzw. 300 Kontraktionen infolge elektrischer Reizung, s. Baldwin und Opie, 1978 an *Pecten alba*) findet auch bei Pecteniden bereits während der Muskelaktivität eine Octopinbildung in großem Ausmaß statt. Vernachlässigt man also die verhaltensbedingte Trennung der Funktionen von Phospho-L-Arginin und Octopinbildung, so ist auch bei Pecteniden eine Integration der beiden Prozesse nicht auszuschließen.

Ein Abbau des Phosphagens könnte nicht nur dadurch eine Steigerung des Glykolyseflusses bewirken, daß die Konzentration des Phosphagens sinkt und so die Glykolyse enthemmt wird (s. S. 270), sondern nach Davuluri et al. (1981) sowie Wilson et al. (1981) auch dadurch, daß die Konzentration des anorganischen Phosphates steigt. Das Phosphat ist Substrat der Glykogenphosphorylase, eines der regulatorisch wichtigen Enzyme der Glykogenolyse (Newsholme und Crabtree, 1979), das aufgrund der Maximalaktivitäten bei *Sipunculus nudus* wohl das eigentliche fluxlimitierende Enzym der Glykogenolyse darstellt (vergl. S. 267). Vazquez Baanante und Rosell-Perez (1979) wiesen im Adduktor von *Pecten maximus* im Gegensatz zum Wirbeltiermuskel neben Phosphorylase a und b die Existenz einer sehr inaktiven Phosphorylase c nach, die durch physiologische AMP-Konzentrationen nicht aktivierbar ist. Unter aeroben Bedingungen liegt die Phosphorylase des Adduktors hauptsächlich als Phosphorylase c vor. Es ist leicht vorstellbar, daß die Aktivierung der

Phosphorylase einen Speicher energiereichen Phosphates für die ersten Phasen der Aktivität erforderlich macht, um die Zeit bis zur Erhöhung der Stoffwechselrate zu überbrücken.

Die Octopindehydrogenase spielt in der Regulation des Glykolyseflusses wahrscheinlich keine Rolle. Vermutlich stellt sie sich als Gleichgewichtsenzym auf veränderte Konzentrationen von Pyruvat und/oder NADH ein (Hochachka, 1980). Eine Regulation durch die Argininkonzentration kann wohl ausgeschlossen werden, da Arginin schon unter Ruhebedingungen in der Muskulatur von *Sipunculus nudus* in Konzentrationen (ca. 7 µmol/g FG) vorliegt, die erheblich größer als K_m (1,9 mM) sind (Haas et al., 1973). De Zwaan et al. (1980) konnten im Adduktor von *Placopecten magellanicus* einen Anstieg der Pyruvatkonzentration bei Aktivität nachweisen, der im Zusammenhang mit einer Verschiebung des Verhältnisses zwischen NADH und NAD ursächlich die Bildung von Octopin zur Folge haben könnte.

Ein Vergleich der an *Sipunculus nudus* und an Pecteniden erarbeiteten Daten zum Energieinhalt läßt vermuten, daß eine hohe Phosphagenkonzentration und eine zeitliche Integration von Phosphagenumsatz und anaerober Glykogenolyse einen derartig starken Abfall des Energieinhaltes wie bei den Pecteniden (bis auf 0,33, Grieshaber, 1978) verhindern kann. Die Abnahme des Energieinhaltes ist dabei auch mit einer starken Abnahme des Phosphagengehaltes (bis auf 6,9 % des Ausgangswertes, Grieshaber, 1978) verbunden. *Sipunculus nudus* zeigt dagegen im Hautmuskelschlauch einen vernachlässigbaren geringen Abfall des Energieinhaltes und eine Abnahme des Phosphagengehaltes bis auf 56,3 % des Ausgangswertes. Der schwimmende Bivalvier *Lima hians* zeigt aufgrund einer ebenfalls besseren Integration von Phosphagenabbau und Glykolyse eine Abnahme des Energieinhaltes, die nur bis auf durchschnittlich 0,82 erfolgt (Gäde, 1981).

Es ist allerdings möglich, daß das Ausmaß der Integration und damit das Ausmaß der Beanspruchung des Energieinhaltes von der Intensität des ATP-Umsatzes abhängt. Bei etwa gleicher Ausstattung von *Placopecten* und *Sipunculus* mit Phosphagen (s.

4.1.1.a, S.208ff.) betrug die Umsatzrate des ATPs bei *Placopecten* während der Aktivität 14,9 µmol $g^{-1}min^{-1}$ (Livingstone et al., 1981), während *Sipunculus nudus* bei intensiver Grabtätigkeit 0,30 µmol $g^{-1}min^{-1}$ umsetzte. Bei der Analyse für *Sipunculus* ist allerdings nur der anaerobe ATP-Umsatz berücksichtigt, der sich aus der Octopinakkumulation und dem Abbau des Phosphagens ergibt. Die Aktivitätsperiode erstreckte sich bei *Placopecten* über 2 min, bei *Sipunculus* dagegen über durchschnittlich 67 min. Ein ähnlich intensiver ATP-Umsatz wie bei *Placopecten* während kurzer Aktivitätsperioden wurde zwar ebenso für *Chlamys opercularis* (Grieshaber, 1978), *Cardium tuberculatum* (Gäde, 1980b), aber auch für *Lima hians* (Gäde, 1981) gefunden, so daß die Intensität des ATP-Umsatzes für die Integration nicht in allen Fällen eine so große Rolle spielen kann.

Im Vergleich mit den letztgenannten Tieren kann der hohe Gehalt an Phosphagen und an Octopindehydrogenase in der Muskulatur des *Sipunculus nudus* nur in der Hinsicht gedeutet werden, daß das Tier nicht für kurzfristige intensive Bewegungen, sondern eher für langfristige Beanspruchungen ausgerüstet ist. Dies ist im Hinblick auf die Lebensweise der Tiere verständlich, besonders im Hinblick darauf, daß sie z.B. zur Nahrungsaufnahme längere Zeit im anoxen Sediment graben. Die bereits diskutierte schnelle Reaktionsfähigkeit (s.a. 4.1.3., S. 292) des Tieres bleibt hiervon unberührt. Während Pecteniden die Octopingärung in erster Linie als Hilfsmittel in der ersten Stunde der Erholung nutzen, verwendet *Sipunculus nudus* diese Form der Energiegewinnung nach den bisherigen Ausführungen bei längerer Grabtätigkeit im Sediment. Die Funktion der Octopingärung z.B. für die Konstanthaltung des Energieinhaltes wird durch den hohen Gehalt an Octopindehydrogenase unterstrichen.

In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage, warum viele Mollusken und auch *Sipunculus nudus* Octopin als laktatanaloges Endprodukt der anaeroben Glykolyse bilden (vergl. Gäde, 1980a). De Zwaan et al. (1981c) und Livingstone (1982) ordnen die Octopindehydrogenase in die Reihe der Opindehydrogenasen

ein, deren Existenz an das Vorhandensein von hohen intrazellulären Aminosäurekonzentrationen gebunden ist. Diese hohen Konzentrationen liegen bei marinen Osmokonformern vor. Eine besondere Stellung nimmt die Octopindehydrogenase ein, da sie an die Umsetzung des Phosphagens der betreffenden Tiere Phospho-L-Arginin gekoppelt sein könnte. Dies wird besonders deutlich, wenn bei mehreren möglichen Endprodukten der anaeroben Glykolyse Octopin dasjenige ist, welches bei Aktivität gebildet wird (Baldwin et al., 1981; Gäde, 1980b). Zammit und Newsholme (1976) diskutierten daher eine Erleichterung des Phosphagenumsatzes durch Entfernen von L-Arginin, Zandee et al. (1980) ein Vermeiden osmotischer Störungen, Thoai und Robin (1969) einen Schutz von Arginin vor der Hydrolyse durch die Arginase. Bowlus und Somero (1979) diskutierten, daß Arginin mit Pyruvat kondensiert, um störende Effekte des Arginins auf die Eigenschaften wichtiger Enzyme zu vermeiden. Dieses Argument wurde auch von Hochachka (1980) und Vollmer et al. (1981) angeführt. Zusätzlich vermutet Hochachka, daß die Überführung des basischen L-Arginins in das neutrale Octopin eine Störung des intrazellulären pH verhindert. Dabei übersieht er allerdings, daß sich die Eigenschaften der basischen Gruppen des L-Arginins zwischen Phospho-L-Arginin und L-Arginin nicht pH-relevant unterscheiden. Auswirkungen von O_2-Mangel und Aktivität auf den Säure-Basen-Haushalt werden unter 4.3. genauer erörtert.

Bowlus und Somero (1979) sowie Thoai und Robin (1969) übersehen, daß die Reaktion der Octopindehydrogenase einen starken Anstieg der Argininkonzentration bei Aktivität nicht verhindert, da die Octopinbildung nicht synchron und auch nicht im gleichen Ausmaß wie die Hydrolyse des Phospho-L-Arginins erfolgen muß (s. die oben angeführten Untersuchungen an Pectiniden sowie Tab. 10, S. 84). Außerdem wird Octopin bei biotopbedingter Anaerobiose nur in geringem Ausmaß gebildet, obwohl das Phosphagen in dieser Situation in ebenso großem Ausmaß beansprucht wird wie bei Aktivität. Das Argument von Zammit und Newsholme behält trotzdem eine gewisse Gültigkeit, da eine noch so geringe Octopinbildung immer den Umsatz des Phospho-L-Arginins unterstützt.

Eine plausiblere Erklärung liefern Fields und Quinn (1981). Sie sehen einen Vorteil sämtlicher Opindehydrogenasen gegenüber der Laktatdehydrogenase darin, daß für diese Enzyme andere Gleichgewichtsverhältnisse vorliegen. Eine hohe Aminosäurekonzentration begünstigt die Kondensationsreaktion und hält daher den Quotienten $NADH/NAD^+$ niedriger als dies bei der Reaktion der Laktatdehydrogenase möglich wäre. Für die Octopindehydrogenase kommt hinzu, daß bei niedrigem K_m für die Aminosäure (de Zwaan et al., 1981c) L-Arginin aus dem Phosphagen nachgeliefert und daher eine größere Anhäufung von Octopin möglich wird. Aus diesem Grunde scheint erklärbar, daß die Octopindehydrogenase bevorzugt bei Mollusken mit größerer motorischer Aktivität gefunden wird (Livingstone, 1982). *Sipunculus nudus* ist aufgrund der hohen Bedeutung des Phosphagen/Octopinsystems für seine Lebensweise mit dieser Gruppe von Mollusken vergleichbar.

Das System Laktat/Creatinphosphat hat sich anscheinend bei der Anpassung an das Leben im Süßwasser als das günstigere herausgebildet (weniger Aminosäuren).

Mit der Auswahl der Octopindehydrogenase für die anaaerobe Glykolyse und der Ausdifferenzierung der Octopindehydrogenase in den verschiedenen Geweben (Storey, 1977; Storey und Storey, 1979a) haben die Mollusken eine der evolutiven Entwicklung des Aktivitätsstoffwechsels der Vertebraten (Ruben und Bennett, 1980) analoge Entwicklungsrichtung genommen. Die am höchsten entwickelten Mollusken, die Cephalopoden, besitzen mit ihrem Octopin/Argininphosphatsystem ein ebenso hoch entwickeltes Stoffwechselsystem für schnelle Bewegungen wie Vertebraten mit dem System Laktat/Creatinphosphat. Ein dem Cori-Zyklus analoger Kreislauf des Octopins konnte noch nicht endgültig bewiesen werden (vergl. Storey und Storey, 1979b), obwohl das Verteilungsmuster der Isoenzyme der Octopindehydrogenase dafür sprechen würde (Storey und Storey, 1979a; Gäde, 1980c).

Sipunculus nudus bildet und metabolisiert Octopin den vorliegenden Ergebnissen zufolge in demselben Gewebe. Eine Ausscheidung in die Coelomflüssigkeit findet nicht statt. Die Summe der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin, L-Arginin und

Octopin bleibt auch bei den höchsten gemessenen Octopinkonzentrationen konstant (s. Tab. 10, S. 84). *Sipunculus nudus* besitzt jedoch als einfaches Reflextier (v. Uexküll, 1903) in Anpassung an seinen extremen Lebensraum ein Phospho-L-Arginin/Octopinsystem, das quantitativ dem höherer Mollusken entspricht. Es gewährleistet nach den vorhergehenden Ausführungen eine gewisse Schnelligkeit bei den reflexartigen Bewegungen und bei fluchtartigem Eingraben sowie eine langfristige Belastbarkeit des Energiestoffwechsels bei Grabtätigkeit im anaeroben Sediment. Es ist jedoch denkbar, daß mit der Octopinbildung und dem Phosphagenabbau bei *Sipunculus nudus* nicht alle Prozesse der Energiegewinnung bei funktionsbedingter Anaerobiose erfaßt sind. Dafür spricht zum einen die Diskrepanz zwischen gefundener und theoretisch möglicher Glykogenolyserate und zum anderen die Tatsache, daß das bei der Grabtätigkeit gefundene Ausmaß der Ansäuerung in der Coelomflüssigkeit nicht durch die Octopinbildung erklärt werden kann (s. Kap. 4.3., S. 362). Die Suche nach weiteren Endprodukten der anaeroben Glykogenolyse ist also fortzusetzen.

4.1.3. Gewebeunterschiede bei Anaerobiose

Der Körper des *Sipunculus nudus* besteht zu 52 % aus Coelomflüssigkeit. Ca. 80 % des gesamten Gewebes bestehen aus Muskulatur, wobei der Hautmuskelschlauch mit 93 % den größten Teil des Muskelgewebes bildet. Die verbleibenden 7 % unterscheiden sich jedoch in auffälliger Weise von der restlichen Muskulatur. Es handelt sich um die vier Introvertretraktoren, die im Gegensatz zum peripheren Hautmuskelschlauch keinen Kontakt zum Außenmedium haben. Sie liegen als isolierte Muskelstränge in der Coelomflüssigkeit und werden über diese mit Sauerstoff versorgt. Es bot sich daher an, Retraktoren und Hautmuskelschlauch auf Unterschiede im Stoffwechsel zu untersuchen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen richtete sich das Interesse außerdem auf eine metabolische Differenzierung der Gewebeschichten im Hautmuskelschlauch. Die Untersuchungen beschränkten sich dabei auf die Unterschiede in der enzymatischen Ausstattung.

(a) biotopbedingte Anaerobiose

Die aeroben Ausgangskonzentrationen von Acetat und Propionat liegen in den Retraktoren höher als im Hautmuskelschlauch. Der Acetatgehalt im Hautmuskelschlauch betrug durchschnittlich 0,59 ± 0,02 µmol/g FG, in den Retraktoren dagegen 2,30 ± 0,02 µmol/g FG. Der Propionatgehalt unterschied sich mit 0,06 ± 0,02 µmol/g FG im Hautmuskelschlauch und 0,43 ± 0,02 µmol/g FG in den Retraktoren ebenfalls erheblich. Während der Anaerobiose nahm der Acetatgehalt in den Retraktoren wie auch im Hautmuskelschlauch nicht kontinuierlich zu (s. Abb. 8, S. 65). Bezieht man die Konzentrationsänderungen im Inkubationsmedium, in der Coelomflüssigkeit und im Gewebe mit ein, so läßt sich jedoch eindeutig eine Acetatproduktion nachweisen. Wahrscheinlich verläßt Acetat sehr leicht das Gewebe. Die hohen Acetatwerte unter aeroben Bedingungen müßten also auf eine hohe Umsatzrate von Acetat zurückzuführen sein. Besonders hohe aerobe Umsatzraten treten demnach in Retraktoren und Coelomzellen auf.

Der Propionatgehalt im Hautmuskelschlauch stieg während der Anaerobiose kontinuierlich an und erreichte nach 36 h Anoxie einen Maximalwert von durchschnittlich 1,62 ± 0,54 µmol/g FG. In den Retraktoren setzte dieser Konzentrationsanstieg erst verzögert nach 6 h ein und erreichte nach 48 h mit maximal 1,16 ± 0,33 µmol/g FG anscheinend nicht so hohe Werte wie im Hautmuskelschlauch. Dies muß jedoch nicht bedeuten, daß die Syntheserate der Retraktoren für Propionat niedriger liegt als im Hautmuskelschlauch. Vielmehr ist vorstellbar, daß Propionat ebenfalls frühzeitig anaerob gebildet, jedoch aufgrund der bereits vorliegenden hohen aeroben Konzentration eher an die Coelomflüssigkeit abgegeben wird. Demnach käme es erst zu einer Anhäufung von Propionat in den Retraktoren, wenn die Syntheserate die Abgaberate aus dem Gewebe übersteigt. Dies ist nach 6 h der Fall.

Ein Vergleich der Produktionsraten von Acetat und Propionat in verschiedenen Geweben ist nach diesen Erläuterungen nicht möglich, da diese Metabolite das Gewebe verlassen. Für Retraktoren und Hautmuskelschlauch könnte die quantitative Übereinstimmung bei der Succinatbildung - Succinat wird nur in geringfügigem Ausmaß ausgeschieden - auf eine ähnliche Stoffwechselrate hinweisen.

Beim Abbau des Aspartates in den ersten Stunden der Anaerobiose zeigt sich ebenfalls eine Übereinstimmung des biotopbedingten anaeroben Energiestoffwechsels in Hautmuskelschlauch und Retraktoren. In beiden Geweben war nach 6 h der größte Teil des Aspartates abgebaut. Die Ausgangskonzentrationen und die insgesamt umgesetzte Menge stimmten etwa überein. Geht man davon aus, daß Aspartat in den ersten Stunden der Anaerobiose das dominierende Substrat der Anaerobiose ist, so spricht dies für die oben geäußerte Ansicht, daß die Raten der Propionatsynthese in Hautmuskelschlauch und Retraktoren gleich sind.

D- und L-Alanin zeigten in den Retraktoren Konzentrationen, die in der gleichen Größenordnung lagen wie im Hautmuskelschlauch. Aufgrund der bereits erwähnten Streuungen kann über den zeitlichen Verlauf der Konzentrationsänderungen wenig ausgesagt werden (s. Tab. 4, S. 66). In beiden Geweben könnte

eine Zunahme des Alaningehaltes stattfinden, die der Abnahme der Aspartatkonzentration äquimolar ist.

Das Verhalten des Malatgehaltes bei Anaerobiose wurde in den Retraktoren nicht untersucht. Allerdings zeigen die bei Inkubation unter verschiedenen O_2-Partialdrucken gewonnenen Ergebnisse ebenfalls eine Übereinstimmung zwischen Hautmuskelschlauch und Retraktoren an (s. Abb. 17, S. 99).

Allein die Aktivitätsverteilung des „Malat-Enzyms", das vielleicht bei *Sipunculus nudus* für die Bereitstellung des Malates bei langfristiger Anaerobiose verantwortlich ist (s. 4.1.1., S. 219). läßt fragwürdig erscheinen, ob die anaerobe Stoffwechselrate in den genannten Geweben wirklich gleich ist. Die Kapazität der Carboxylierung von Pyruvat ist in den Retraktoren um ca. 50 % geringer als im gesamten Hautmuskelschlauch. Eine Übereinstimmung der Stoffwechselrate, die aus den stationären Metabolitkonzentrationen ersichtlich scheint, ist trotzdem möglich, wenn das „Malat-Enzym" nicht das fluxlimitierende Enzym der Succinatgärung ist - *in-vitro*-Untersuchungen stehen noch aus - und/oder, wenn die Fluxrate wie im vorliegenden Fall (vergl. Grieshaber und Hitzemann, 1979) nicht den Maximalwert erreicht (s. 4.1.1., S. 212).

Insgesamt kann nach den hier angestellten Überlegungen eine qualitative und quantitative Übereinstimmung des biotopbedingten anaeroben Stoffwechsels in Hautmuskelschlauch und Retraktoren festgehalten werden. Eine qualitative Übereinstimmung mit den beiden genannten Geweben zeigt sich im Stoffwechsel der Coelomzellen. Die hohe Ausgangskonzentration an Acetat wurde bereits erwähnt. Eine Acetatakkumulation konnte aufgrund der hohen Streuungen nicht festgestellt werden. Der anaerobe Stoffwechsel ist jedoch in den Coelomzellen ebenso wie in Hautmuskelschlauch und Retraktoren durch die Anhäufung von Malat, Succinat und Propionat gekennzeichnet. Das Maximum der Konzentrationen wurde nach 12 h erreicht. Die Konzentrationen von Succinat und Propionat änderten sich anschließend kaum noch, d.h., bei isolierter Betrachtung der Coelomzellen war mit 0,61 ± 0,08 µmol/g FG beim Succinat und mit 0,57 ± 0,14 µmol/g FG beim Propionat ein Gleichgewicht zwischen Syntheserate und Abgaberate in das Coelomplasma erreicht.

Eine qualitative Übereinstimmung im anaeroben Stoffwechsel aller untersuchten Gewebe fanden Zurburg und Kluytmans (1980) auch bei *Mytilus edulis*. Fahrenholz (1980) konnte sie auch für *Arenicola marina* bestätigen.

Nach den bisherigen Erörterungen entspricht das Ausmaß der mitochondrialen Succinatbildung in den Retraktoren anscheinend dem Umfang der Succinatbildung im Hautmuskelschlauch. Dies entspricht nicht der Erwartung, da den Aktivitäten von Citratsynthase und Succinatdehydrogenase zufolge im Hautmuskelschlauch eine höhere Anzahl von Mitochondrien vorliegt als in den Retraktoren (s. Tab. 12, S. 89), und somit im Hautmuskelschlauch eine höhere Umsatzrate des anaeroben Stoffwechsels denkbar wäre. Die höhere Dichte der Mitochondrien scheint jedoch auf den äußeren Bereich des Hautmuskelschlauches beschränkt zu sein. Nur das als Ringmuskulatur bezeichnete Mischgewebe aus Cutis, Cuticula, Coelomkanälen und eigentlicher Ringmuskulatur (Metalnikoff, 1900) weist eine vergleichsweise hohe Aktivität von Citratsynthase und Succinatdehydrogenase auf. Die Aktivität der Citratsynthase, des Indikatorenzyms für die Mitochondriendichte (Pette, 1968) liegt in dem Mischgewebe um 30 % höher als in den Retraktoren und um ca. 40 % höher als in der Längsmuskulatur. Dies erscheint sinnvoll, da der Sauerstoff des Atemmediums die äußeren Gewebeschichten des Tierkörpers besser erreicht als die inneren Gewebe. Da *Sipunculus nudus* kein Kreislaufsystem hat, spielt dies für die Energiegewinnung eine große Rolle. Der Hautmuskelschlauch als das Gewebe mit dem größten O_2-Verbrauch nimmt demnach unter aeroben Bedingungen den größten Teil des verbrauchten Sauerstoffs aus dem Wasser und nicht aus der Coelomflüssigkeit auf. Daher ist es für das Tier leichter, in der Coelomflüssigkeit einen genügend hohen P_{O_2} aufrechtzuerhalten, um die O_2-Versorgung der inneren Gewebe zu gewährleisten.

Auch innerhalb einzelner Muskelgewebe ist die Mitochondriendichte unterschiedlich. So fanden de Eguileor und Valvassori (1977) im Zentrum der Längsmuskelbündel von *Sipunculus nudus* eine Mitochondriendichte, die 0,1 % der Zellfläche in der Schnittebene entsprach. An der Peripherie zur Coelomflüssig-

keit fanden sie Zellen mit einer Mitochondriendichte von 7 %, so daß auch innerhalb der Längsmuskelbündel noch eine metabolische Differenzierung vorzuliegen scheint. Die Mitochondriendichte ist auch hier in den Zellen am größten, die direkten Kontakt mit dem für die Sauerstoffversorgung zuständigen Medium haben. In den Retraktoren könnte eine ähnliche Mitochondrienverteilung vorliegen. Nach Reger (1964) weisen diese Muskeln insgesamt ebenfalls nur wenig Mitochondrien auf.

Ein Unterschied zwischen den Geweben besteht im Ruhegehalt an Phosphagen. Die ersten Untersuchungen zum Anaerobiosestoffwechsel ergaben für den Hautmuskelschlauch mit 34,5 ± 6,9 µmol/g FG die höchste Konzentration des Phospho-L-Arginins, gefolgt von den Retraktoren mit 12,3 ± 1,5 µmol/g FG und den Coelomzellen mit 1,34 ± 0,28 µmol/g FG (s. Tab. 6, S. 72, und 7, S.74). Das Phosphagen spielt im Hautmuskelschlauch und in den Coelomzellen bei biotopbedingter Anaerobiose anscheinend nur in den ersten Stunden der Anaerobiose eine Rolle bei der Energiegewinnung, in den Retraktoren fand dagegen bis 48 h ein weiterer Abbau des Phosphagens statt. Mit den unterschiedlichen Konzentrationen des Phospho-L-Arginin scheint auch eine unterschiedliche Höhe des Quotienten der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin gekoppelt zu sein. Dies stellte sich schon bei einem Vergleich von Tieren mit unterschiedlichen Phosphagenkonzentrationen im gleichen Gewebe (Hautmuskelschlauch bzw. Retraktoren) heraus (vergl. S. 208). In den verschiedenen Geweben mit den oben genannten Phosphagenkonzentrationen betrug der Quotient 5,09 (im Hautmuskelschlauch), 1,25 (in den Retraktoren) und 1,11 (in den Coelomzellen).

Den unterschiedlichen Konzentrationen entsprechend leistet das Phosphagen in den verschiedenen Geweben einen unterschiedlichen Beitrag zum Energieumsatz. Im Hautmuskelschlauch nahm der Phosphagengehalt bei Anaerobiose nur während der ersten 12 h um durchschnittlich 14,1 µmol/g FG ab. In den Retraktoren erfolgte in dieser Zeit nur eine Abnahme um 3,2 µmol/g FG. Bis 48 h wurden in den Retraktoren insgesamt mit 6,85 µmol/g FG nur 49 % der im Hautmuskelschlauch umgesetzten Menge abgebaut. In den Coelomzellen fand der geringste Abbau von Phospho-L-

Arginin um insgesamt 1,25 µmol/g FG während 24 h Anaerobiose statt. Der unterschiedliche Umsatz in den Geweben ist zunächst auf die voneinander abweichenden Ausgangskonzentrationen des Phosphagens zurückzuführen. Weiterhin könnte ein unterschiedlicher Energiebedarf Ursache der verschiedenen Konzentrationen und damit der verschiedenen Umsätze sein.

Unterschiedliche Konzentrationen und ein daraus resultierender unterschiedlicher Beitrag des Phosphagens zum Energieumsatz wurden von Zurburg und Ebberink (1981) auch für verschiedene Gewebe von *Mytilus edulis* beschrieben.

Betrachtet man das Verhalten des Energieinhaltes in Hautmuskelschlauch und Retraktoren während der Anaerobiose und vergleicht dabei Ausgangskonzentration und Umsatz des Phosphagens, so fällt auf, daß die geringfügig stärkere Beanspruchung des Energieinhaltes in den Retraktoren mit der geringeren Ausgangskonzentration und dem geringeren Umsatz des Phosphagens einhergeht. Ein Zusammenhang zwischen Veränderungen des Energieinhaltes und dem Phosphagengehalt war bereits bei einer vergleichenden Betrachtung der Vorgänge bei biotopbedingter Anaerobiose vermutet worden. Demnach ist ein hoher Phosphagengehalt geeignet, die Abnahme des Energieinhaltes in einem Gewebe während einer Anaerobiose zu vermindern bzw. zu verhindern. Diese Vermutung scheint sich hier auch für zwei verschiedene Gewebe desselben Tieres zu bestätigen.

(b) funktionsbedingte Anaerobiose

Bei funktionsbedingter Anaerobiose wurden nur die Unterschiede zwischen Hautmuskelschlauch und Retraktoren untersucht. Erschöpfende Grabtätigkeit führt ebenso wie biotopbedingte Anaerobiose in den Retraktoren zu einer geringeren Abnahme des Phosphagengehaltes (5,0 gegenüber 13,4 µmol/g FG) und zu einer sehr viel geringeren Octopinbildung als im Hautmuskelschlauch (0,98 gegenüber 8,1 µmol/g FG). Dies läßt vermuten, daß die Retraktoren bei der Fortbewegung der Tiere geringer beansprucht werden. Kreutzer (1982) konnte zeigen, daß isolierte Retraktoren bei elektrischer Reizung (25 V x 1 msec) und isometrischer Kontraktion (60 min aerobe Inkubation, 360 Kontraktionen) mit

durchschnittlich 4,50 µmol/g FG sehr viel mehr Octopin bilden können, verbunden mit einem Abbau des Phospho-L-Arginin um 19,3 µmol/g FG. Bei Erschöpfung der Retraktormuskeln nach isotonischen Kontraktionen (Reiz 20 V x 1 msec, 480 Kontraktionen, 80 min aerobe Inkubation) konnte dagegen nur eine Bildung von 0,74 µmol Octopin/g FG gefunden werden, verbunden mit einem Abbau des Phosphagens um 5,8 µmol/g FG (Pörtner und Grieshaber, unveröffentlicht). Bei einem Vergleich dieser Werte liegt der Schluß nahe, daß die Kontraktionen der Retraktormuskeln *in vivo* mit geringem Energieumsatz verbunden und daher auxotonischer Natur mit großem isotonischen Anteil sind. Die Retraktoren dienen hauptsächlich dazu, den Rumpf der Tiere im Sediment nachzuziehen und den Introvert einzuziehen, um den nächsten Vorstoß des Rüssels in das Sediment vorzubereiten. Diese Arbeit ist nur mit geringen Druckänderungen im Coelom (bis zu 12 cm H_2O (kleine Zwischenpeaks) gegenüber 110 cm H_2O durch Wirkung des Hautmuskelschlauches (Hauptpeaks), s. Abb. 39, S. 122), also mit einem geringen Kraftaufwand verbunden (s. Trueman und Foster-Smith, 1976).

Für den Energiebedarf der Retraktoren bei Grabtätigkeit hat auch der Haltetonus Bedeutung, mit dessen Hilfe der Introvert gegen den im Coelom erzeugten Druck zunächst in eingestülpter Position verbleibt, um dann vehement in das Sediment vorzustoßen. Eine derartige Funktionsweise der Retraktoren wurde bereits von von Uexküll (1896, 1903) und Fuchs (1910) beschrieben und ähnelt in ihrer Charakterisierung dem bei einigen Molluskenmuskeln gefundenen, sehr ökonomischen Sperrtonus (Rüegg, 1971). Auch in dieser Phase der Grabtätigkeit ist also für die Retraktoren ein geringerer Energieumsatz anzunehmen als für den Hautmuskelschlauch.

Die beschriebene unterschiedliche Belastung von Hautmuskelschlauch und Retraktoren während der Grabtätigkeit zeigt sich offensichtlich auch in der Ausstattung der jeweiligen Muskulatur mit Phosphagen. Die Retraktormuskeln als das geringer beanspruchte Gewebe besitzen nur etwa 35 bis 40 % des Phosphagengehaltes, der für den Hautmuskelschlauch charakteristisch ist.

(c) Enzymverteilungsmuster

Die in Tab. 12, S. 89, aufgeführten Enzymaktivitäten ermöglichen unter Berücksichtigung der gefundenen Metabolitkonzentrationen einen tieferen Einblick in die metabolische Differenzierung des Muskelgewebes von *Sipunculus nudus*. Die Maximalaktivitäten der Enzyme geben im Vergleich verschiedener Gewebe nach Pette (1968) Auskunft über ihre relative Konzentration. Daraus lassen sich wiederum Rückschlüsse auf die relative Kapazität eines Gewebes für eine Stoffwechselrichtung ziehen. In der vorliegenden Arbeit wurde die Muskulatur nach Ring-, Längs- und Retraktormuskeln aufgetrennt. Wie schon geschildert, stellt dabei das als Ringmuskulatur bezeichnete Gewebe ein Mischgewebe dar, das neben der eigentlichen Ringmuskelschicht auch noch Cutis, Cutiskanäle und Coelomflüssigkeit enthält.

Auch Längsmuskeln und Retraktormuskeln können nicht unbedingt als homogene Gewebe betrachtet werden. De Eguileor und Valvassori (1977) beschrieben für die Längsmuskelbündel Fasern mit geringem Mitochondriengehalt (0,1 %), die in der Mitte der Bündel liegen, und Fasern mit höherem Mitochondriengehalt an der Peripherie der Bündel. Reger (1964) fand für den Retraktor zwei Typen von Muskelfasern, die er als phasische und tonische Fasern klassifizierte. Prosser et al. (1951) sowie Prosser und Sperelakis (1959) konnten an den Retraktoren des Sipunculiden *Phascolosoma gouldii* einen phasischen und einen tonischen Anteil der Kontraktionen einer dualen Innervierung zuordnen. Ernst (1970) wies bei diesem Sipunculiden ebenfalls 2 Fasertypen in den Retraktoren nach, von denen einer durch Faltung die enorme Verkürzung des Retraktors ermöglicht. Die hier geschilderten Befunde lassen auf eine Bifunktionalität der Retraktoren schließen, die auch in einer morphologischen Differenzierung der Fasern zum Ausdruck kommt. Die Befunde stützen die oben geschilderten Funktionen des Retraktors als auxotonisch arbeitenden Muskel (phasische Komponente) und als Haltevorrichtung gegen den Binnendruck des Coeloms (tonische Komponente).

Eine Inhomogenität des Muskelgewebes ist auch für den Skelett-

muskel von Vertebraten bekannt (Pette und Spamer, 1979). Er besteht aus Mischpopulationen schneller und langsamer Fasern, die sich auch auf der Ebene der enzymatischen Organisation unterscheiden. Die Möglichkeit einer strukturellen und metabolischen Differenzierung von Muskelzellen in einem Muskel muß also bei Betrachtung äußerlich homogen erscheinender Muskeln wie Längsmuskelbündel und Retraktoren dazu führen, daß aus den im Homogenat gefundenen mittleren Enzymkonzentrationen des Gesamtmuskels nur auf eine graduell unterschiedliche Funktionalität des Muskels in der einen oder der anderen Richtung geschlossen werden kann.

Für die Muskelgewebe von *Sipunculus nudus* sollen die gefundenen Maximalaktivitäten der Enzyme unter folgenden vergleichenden Aspekten betrachtet werden:

1. Kapazität für eine einzelne Reaktion (Pette, 1968).
2. Kapazität für einen Stoffwechselweg durch die Aufstellung proportionskonstanter Gruppen (Pette, 1968). Dabei soll besonderes Augenmerk auf den Vergleich der fluxgenerierenden, regulatorisch wichtigen Reaktionen gerichtet werden (Newsholme und Crabtree, 1979, 1981).
3. Vergleich verschiedener Stoffwechselsysteme im Muskel (Systemkorrelationen nach Pette, 1968; Pette und Dölken, 1975). Überprüfung auf konstante Systemkorrelationen (Staudte und Pette, 1972).

Eine quantitative Aussage über den tatsächlichen Stoffumsatz in der Zelle ist aufgrund der ermittelten Maximalaktivitäten nur bei Enzymen möglich, die in der Zelle Reaktionen katalysieren, welche weit vom Gleichgewicht entfernt sind (Newsholme et al., 1978b). Hierbei handelt es sich um die oben genannten regulatorischen Reaktionen in einer Stoffwechselkette.

Vergleicht man zunächst die Enzymaktivitäten des Kohlenhydratstoffwechsels in den untersuchten Geweben (s. Tab. 12, S. 89), so fällt schon bei Betrachtung der Phosphorylase ein Unterschied auf. Die Längsmuskulatur enthält eine Phosphorylaseaktivität, die mit Hilfe von 0,5 mM 5'-AMP um den Faktor 6,11

bis auf 1,16 ± 0,21 U/g FG aktivierbar ist. Dies entspricht der maximal möglichen Phosphorylaseaktivität, wenn die von Newsholme und Start (1973) geschilderte Tatsache übertragbar ist, daß gegebenenfalls vorhandene Phosphorylaseformen a und b bei jeweils voller Aktivierung eine ähnliche katalytische Aktivität besitzen.

Ähnlich wie in der Längsmuskulatur fand sich in der Ringmuskulatur eine Aktivierung der Phosphorylase um den Faktor 6,5. Dabei wurde ein Wert von 0,52 ± 0,04 U/g FG erreicht. Geht man davon aus, daß der Anteil der Cutis und der Coelomkanäle an dem als Ringmuskulatur bezeichneten Mischgewebe volumen- und gewichtsmäßig etwa 30-50 % ausmacht (geschätzt nach Metalnikoff, 1900, Abb. 3; Trueman und Foster-Smith, 1976, Abb. 2) und daß die Phosphorylaseaktivität hauptsächlich auf die Muskulatur selbst beschränkt ist, so unterscheidet sich der Phosphorylasegehalt der eigentlichen Ringmuskulatur nicht mehr wesentlich von dem Phosphorylasegehalt der Längsmuskulatur. Eine ähnliche Gleichstellung der Enzymkonzentrationen ergibt sich unter der gleichen Annahme für Phosphofructokinase, Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase, Octopindehydrogenase, Glycerophosphatdehydrogenase, Argininkinase, nicht jedoch für Hexokinase, Fructose-1,6-bisphosphatase, Pyruvatkinase, Malatdehydrogenase, „Malat-Enzym", Citratsynthase, Isocitratdehydrogenase und Succinatdehydrogenase, die in der Cutis (mit Coelomflüssigkeitsresten) anscheinend in gleichen oder sogar höheren Konzentrationen vorliegen als in der Ringmuskulatur. Diesen Ausführungen zufolge könnte man eine Gleichverteilung aller wichtigen Enzyme des anaeroben Aktivitätsstoffwechsels zwischen Ring- und Längsmuskeln annehmen.

Die Kapazität für die Umsetzung von Glykogen wäre also für Ring- und Längsmuskulatur als gleich anzusehen. Die Retraktoren weisen mit 0,37 ± 0,14 U/g FG demgegenüber nur ca. 30 % der in der Längsmuskulatur enthaltenen maximalen Phosphorylaseaktivität auf. Die nicht aktivierte Phosphorylase zeigt jedoch mit 0,23 ± 0,20 U/g FG eine ähnliche Aktivität wie in der Längsmuskulatur. Allerdings streuen die gefundenen Werte stark. Die Phosphorylase in den Retraktoren zeigt demanch mit

einem Faktor von 1,61 eine geringere Aktivierbarkeit durch 5'-AMP als Längs- und Ringmuskulatur.

In vivo ist im Hautmuskelschlauch kein wesentlicher Anstieg des AMP-Gehaltes festzustellen. Also kann bei Grabtätigkeit auch nicht auf eine Aktivierung der Phosphorylase durch 5'-AMP geschlossen werden. Nur in den Retraktoren stieg die AMP-Konzentration bei intensiver Grabtätigkeit unter starker Streuung von 0,08 ± 0,06 auf 0,23 ± 0,28 µmol/g FG an. In der Zelle wird demzufolge ein AMP-Gehalt von ca. 0,40 mmol/l Zellwasser und damit eine Konzentration erreicht, die eine aktivierende Wirkung haben könnte. Kreutzer (1982) fand unter unphysiologisch hoher Aktivitätsbelastung Maximalkonzentrationen von 0,51 ± 0,28 µmol/g FG, die einer intrazellulären Konzentration von ca. 0,9 mmol/l entsprechen würden. Entsprechend trat unter diesen *in-vitro*-Bedingungen eine große Steigerung des (anaeroben) Glykogenolyseflusses auf (s. S. 268). Die Regulation der Phosphorylase bei *Sipunculus nudus* bedarf jedoch noch weiterer experimenteller Untersuchungen.

Festzuhalten bleibt, daß in der Längsmuskulatur eine 3,14-fach höhere Durchflußrate der Glykogenolyse möglich ist als in den Retraktoren. Bei maximaler Aktivierung der Phosphorylase in beiden Geweben müßte also in der Längsmuskulatur die 6,28-fache Menge an Octopin gebildet werden (bei angenommener geringer Beteiligung des aeroben Energiestoffwechsels). Für den gesamten Hautmuskelschlauch ergab sich ein Phosphorylasegehalt von durchschnittlich 0,84 U/g FG. Dies bedeutet, verglichen mit den Retraktoren, bei maximaler Aktivierung noch eine 4,54-fach höhere Octopinbildung im Hautmuskelschlauch. Bei Aktivität wurde im Hautmuskelschlauch eine Octopinbildung von 8,1 µmol/g FG gegenüber 0,98 µmol/g FG in den Retraktoren gefunden. Der Anstieg des Octopingehaltes im Hautmuskelschlauch lag also um den Faktor 8,27 höher als in den Retraktoren. Das erwartete Verhältnis wurde damit um fast das Doppelte übertroffen. Dies spricht wiederum für eine geringere Beanspruchung der Retraktoren bei der Grabtätigkeit. Die geringere Belastung äußert sich also insgesamt nicht nur in einer geringeren Phosphagenkonzentration (s.o., S. 287), sondern auch in einer geringeren Kapazität für den Umsatz von Glykogen.

Eine Betrachtung der Aktivitätsverteilung der alkalischen Fructose-1,6-bisphosphatase läßt neben der Tatsache, daß die Phosphorylase in geringerem Ausmaß durch 5'-AMP aktivierbar ist, eine geringere Flexibilität der Glykogenolyse in den Retraktoren vermuten. Nach Newsholme und Crabtree (1973) und Newsholme,1976) erhöht ein Substratcyclus zwischen Fructose-6-phosphat und Fructose-1,6-bisphosphat die Flexibilität des glykolytischen Flusses. Eine 7-fach höhere Konzentration der Fructose-1,6-bisphosphatase im Hautmuskelschlauch würde also eine raschere Flußsteigerung im Hautmuskelschlauch ermöglichen als in den Retraktoren. Der Substratcyclus Glucose-6-Phosphatase/Hexokinase spielt bei *Sipunculus nudus* anscheinend keine wesentliche Rolle (vergl. Surholt, 1981).

In den Retraktoren findet sich mit 687 U/g FG eine um ca. 50 % höhere Konzentration an Argininkinase als im Gesamt-Hautmuskelschlauch (437 U/g FG). Nach Beis und Newsholme (1975) handelt es sich bei der Argininkinase um ein Enzym, das eine Reaktion in der Nähe des Gleichgewichtes katalysiert. Für ein Gleichgewichtsenzym ist im Gegensatz zu einem Regulatorenzym in der Regel eine hohe katalytische Aktivität charakteristisch (Newsholme und Start, 1973). Dem entspricht eine hohe Konzentration des Gleichgewichtsenzymes im Gewebe. Je höher dabei die Enzymkonzentration liegt, desto schneller stellt sich das Gleichgewicht bei einer Verschiebung wieder ein. Der höhere Gehalt an Argininkinase in den Retraktoren ist also im Hinblick auf die zeitliche Verfügbarkeit des Phosphagens zu verstehen. Nach Baltzer (1931) „steckt *Sipunculus nudus* in ruhiger Umgebung das Vorderende mit ausgebreiteten Tentakeln aus der Röhre in das freie Wasser hinaus" (s. a. Abb. 43, S. 125). Eine mechanische Reizung der Retraktoren hat ein blitzschnelles Einziehen des Introvertes zur Folge (v. Uexküll, 1896, 1903). Die Reaktionsfähigkeit der Retraktoren soll nach von Uexküll größer als die von Vertebratenmuskeln sein. Eine hohe Konzentration an Argininkinase trägt offensichtlich zu dieser guten Reaktionsfähigkeit bei.

Bildet man den Aktivitätsquotienten zwischen Argininkinase und dem Bezugsenzym der Glykolyse, der Glycerinaldehydphosphat-

dehydrogenase (Pette, 1968), so zeigt sich bei einem Vergleich von Retraktoren und Hautmuskelschlauch, daß die Kapazität des Phosphagenumsatzes im Vergleich zur Glykogenolysekapazität in den Retraktoren sehr viel höher ist (s. Tab. 29). Die geringere Kapazität der Glykogenolyse weist ebenso wie der höhere Gehalt an Argininkinase trotz des niedrigeren Absolutgehaltes an Phosphagen auf eine höhere relative Bedeutung des Phosphagens für die Retraktoren hin. Dies wird auch bestätigt, wenn man den prozentualen Anteil des Phosphagens am anaeroben ATP-Umsatz bei Aktivität in beiden Geweben vergleicht. Bei erschöpfender Grabtätigkeit (s. Tab. 10, S. 84) stammten im Hautmuskelschlauch 12,15 µmol/g FG des ATPs aus der Octopinbildung und ca. 13,3 µmol/g FG aus dem Phosphagen. Bei einem Umsatz von insgesamt 25,45 µmol ATP/g FG entspricht dies einem Beitrag aus dem Phosphagen von 52,3 %. In den Retraktormuskeln stammten 1,47 µmol ATP/g FG aus der Akkumulation von Octopin und 5,02 µmol/g FG aus dem Phosphagen. Dies entspricht bei einem Gesamtumsatz von 6,59 µmol ATP/g FG einem Beitrag von 77,3 % aus dem Phosphagen.

Tab. 29: Aktivitätsverhältnisse einiger Enzyme des Energiestoffwechsels von Sipunculus nudus. Der Berechnung liegen die Enzymaktivitäten in U/g FG zugrunde (vergl. Tab. 12, S. 89). Das Mischgewebe aus Cutis, Coelomkanälen und Ringmuskulatur ist vereinfacht als „Ringmuskeln" bezeichnet. DH = Dehydrogenase

Aktivitätsverhältnis	Längsmuskeln	„Ringmuskeln"	Retraktormuskeln
Phosphorylase/Hexokinase	116	3,7	9,3
Phosphorylase/Glycerinaldehydphosphat-DH	0,030	0,024	0,028
Octopin-DH/Glycerinaldehydphosphat-DH	14,4	15,4	17,2
Glycerinaldehydphosphat-DH/Citratsynthase	103,1	31,7	28,9
Octopin-DH/Malat-DH	23,5	9,1	9,8
Argininkinase/Glycerinaldehydphosphat-DH	13,4	16,3	51,7

Neben der Phosphorylaseaktivität ist auch die Aktivität einiger anderer Enzyme der Glykolyse in den Retraktoren niedriger als im Hautmuskelschlauch. Dies betrifft z.B. die Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase, Pyruvatkinase und Octopindehydrogenase. Laut Staudte und Pette (1972) zeigen Phosphorylase und Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase sowie Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase und Laktatdehydrogenase (bzw. Octopindehydrogenase) konstante Proportionen. Dies läßt sich bei einem Vergleich der verschiedenen Gewebe auch für *Sipunculus nudus* bestätigen (s. Tab. 29). Der Gehalt der genannten Enzyme liegt dementsprechend im Gesamt-Hautmuskelschlauch einheitlich 2-3-mal höher als in den Retraktoren. Das gleiche gilt auch für die Pyruvatkinase (s. Tab. 12, S. 89). Der Unterschied im Gehalt an Phosphofructokinase zwischen Hautmuskelschlauch und Retraktormuskulatur ist dagegen gering.

Innerhalb des Hautmuskelschlauches liegt der Gehalt an Phosphofructokinase in dem als Ringmuskulatur bezeichneten Mischgewebe mit 4,14 ± 1,26 U/g FG deutlich niedriger als in der Längsmuskulatur. Wie bereits geschildert könnte man annehmen, daß sich die Aktivität der Phosphofructokinase auf die eigentliche Ringmuskulatur konzentriert. Für die Cutis resultiert dann ein entsprechend geringer Gehalt dieses Enzyms.

Der Gehalt an Hexokinase ist in dem Mischgewebe Cutis/Ringmuskulatur mit 0,14 ± 0,06 U/g FG um den Faktor 14 höher als in der Längsmuskulatur (0,01 ± 0,01 U/g FG) und um den Faktor 3,5 höher als in den Retraktoren (0,04 ± 0,02 U/g FG). Hier liegt die Vermutung nahe, daß die Hexokinase sich auf den Bereich der Cutis konzentriert. Diese Annahme beruht auf folgenden Überlegungen: Die Cutis wird von Coelomkanälen durchzogen und hat daher direkten Kontakt zur Coelomflüssigkeit. In der Coelomflüssigkeit von *Sipunculus nudus* befinden sich nach Scheer (1969) Kohlenhydrate, die vielleicht aus der Nahrung stammen und vom Darm aus in die Coelomflüssigkeit abgegeben werden. Foster (1974) und De Jorge et al. (1970) wiesen bei anderen Sipunculiden Glucose-Konzentrationen von 0,7-2,2 mmol/l in der Coelomflüssigkeit nach. Aufgrund der vorhandenen Hexokinaseaktivität sind alle untersuchten Gewebe in der Lage, freie Glucose aufzunehmen und zu verwerten. Möglich wäre ein Abbau in

der Glykolyse oder eine Verwertung in der Glykogensynthese. Das Mischgewebe Cutis/Ringmuskulatur und die Retraktoren scheinen verglichen mit der Längsmuskulatur die höhere Kapazität zur Umsetzung der freien Glucose zu haben (s. Verhältnis Phosphorylase/Hexokinase in Tab. 29). Stellt man die eigentliche Ringmuskulatur wiederum der Längsmuskulatur gleich (s.o.), so ergibt sich, daß die Längsmuskulatur und die Ringmuskulatur eine ähnlich hohe Kapazität zum Abbau von Glykogen und eine vergleichbar geringe Kapazität zur Verwertung freier Glucose besitzen, wohingegen in der Cutis und in den Retraktoren mit einer geringeren Glykogenolysekapazität eine bessere Verwertung freier Glucose einhergeht. Beide Gewebe werden gut von der Coelomflüssigkeit umspült (s.o.).

Neben der Aufnahme freier Glucose bietet die Gluconeogenese eine weitere Möglichkeit zur Glykogensynthese. Die Kapazität der Gluconeogenese ist der höheren Aktivität der Fructose-1,6-bisphosphatase zufolge generell im Hautmuskelschlauch am größten. Der Retraktormuskel besitzt nur einen geringen Gehalt an Fructose-1,6-bisphosphatase. Dies erscheint sinnvoll, da dieser Muskel nach Aktivität nicht so viel Octopin metabolisieren muß wie der Hautmuskelschlauch - vorausgesetzt, eine Gluconeogenese aus Pyruvat findet statt - und da er Glykogen auch aus Glucose synthetisieren kann, die er der Coelomflüssigkeit entnimmt.

Mit der höheren Hexokinaseaktivität geht in dem Mischgewebe Cutis/Ringmuskulatur auch eine höhere Konzentration von Mitochondrienenzymen wie Citratsynthase und Succinatdehydrogenase einher. Nimmt man für die Ringmuskulatur eine ähnliche Mitochondrienausstattung wie für Längs- und Retraktormuskeln an, so läßt sich für die Cutis, verbunden mit einer höheren Kapazität der Glucosemetabolisierung, auch eine höhere aerobe Kapazität als in der Muskulatur feststellen. Eine solche Korrelation zwischen Glucoseverwertung und aerobem Stoffwechsel bzw. Glykogenverwertung und anaerobem Stoffwechsel ließ sich auch für Vertebratenmuskeln (Pette, 1968; Bass et al., 1969) sowie Invertebratenmuskeln nachweisen (Zammit und Newsholme, 1976;

Alp et al., 1976). Bei *Sipunculus nudus* bedeutet dies, daß die O_2-Versorgung der Gewebe durch die Körperflüssigkeit bzw. das Außenmedium (gilt nur für die Cutis) und die Nährstoff-(Glucose)-Versorgung der Gewebe durch die Körperflüssigkeit unterschiedlich ist. Den Ergebnissen der Tab. 29 zufolge nutzen z.B. die Retraktoren bei der Energiegewinnung nicht nur die Glucose aus der Coelomflüssigkeit in verhältnismäßig größerem Ausmaß als die Längsmuskulatur (s. den Quotienten Phosphorylase/Hexokinase), sondern auch den in der Coelomflüssigkeit gespeicherten Sauerstoff (s. den Quotienten Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase/Citratsynthase = Verhältnis Glykolyse/Citratcyclus, Atmung; Pette 1968).

Eine ähnliche Konzentrationsverteilung wie Citratsynthase und Succinatdehydrogenase weist die Malatdehydrogenase auf. Dies läßt vermuten, daß ein großer Teil der gemessenen Aktivität auf mitochondriale Malatdehydrogenase zurückzuführen ist (vergl. auch in Tab. 29 das Verhältnis zwischen Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase und Citratsynthase einerseits und zwischen Octopindehydrogenase und Malatdehydrogenase andererseits). Zammit und Newsholme (1976) fanden, daß in den Muskeln vieler mariner Invertebraten der Malat-Aspartat-Shuttle eine sehr viel größere Rolle beim Transport von Reduktionsäquivalenten in die Mitochondrien spielt als der α-Glycerophosphat-Shuttle. Die Aktivitätsverteilung der Malatdehydrogenase und die geringe Aktivität der α-Glycerophosphatdehydrogenase bestätigen diesen Befund auch für *Sipunculus nudus*.

Die cytosolische α-Glycerophosphatdehydrogenase zeigt eine auffällige Aktivitätsverteilung. Obwohl das Mischgewebe Cutis/Ringmuskulatur einen höheren Mitochondriengehalt als die Längsmuskulatur besitzt, liegt die hier gefundene Aktivität fast um die Hälfte niedriger. Nimmt man wiederum eine Konzentrierung des Enzyms auf die eigentliche Ringmuskulatur an, so stellt sich die Frage nach dem Sinn einer solchen Aktivitätsverteilung in Geweben, in denen der Malat-Aspartat-Shuttle dominiert. Eine Funktion im Lipidstoffwechsel, wie sie von Lehninger (1975) hervorgehoben wird, könnte in der Muskulatur von *Sipunculus*

nudus von Interesse sein, wie aus den Erörterungen zum Anaerobiosestoffwechsel hervorgeht (s. 4.1.1., S. 225). Hochachka (1980) sieht eine Funktion der α-Glycerophosphatdehydrogenase ausschließlich unter aeroben Bedingungen, da das α-Glycerophosphat bei Sauerstoffmangel angehäuft wird, die α-Glycerophosphatdehydrogenase hemmt und somit die Laktatdehydrogenase- bzw. in diesem Fall Octopindehydrogenasereaktion begünstigt. Bass et al. (1969) sowie Opie und Newsholme (1967) diskutieren eine Funktion, die eine Bereitstellung von Triosephosphat für die Gluconeogenese in der anschließenden Erholungsphase beinhaltet. Allein dieser Diskussionsbeitrag würde eine Konzentrierung des Enzyms auf das anaerobe Muskelgewebe erklären. Hinweise auf eine Gluconeogenese nach Anaerobiose wurden bei Invertebraten z.B. von Fahrenholz (1980) an *Arenicola marina* gefunden.

Die NADP-abhängige Isocitratdehydrogenase zeigt ebenfalls eine Aktivitätsverteilung, die nicht der Mitochondrienverteilung entspricht. Ihre Konzentration ist in den Retraktoren doppelt so groß wie im Hautmuskelschlauch. Sie weist auch nicht wie andere Mitochondrienenzyme ein Konzentrationsmaximum im Mischgewebe Cutis/Ringmuskulatur auf. Zumindest in den Retraktoren muß daher ein Teil der Aktivität im Cytosol vorliegen. Die NADP-abhängige Isocitratdehydrogenase dient hier hauptsächlich der Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten für biosynthetische Prozesse wie z.B. die Lipidbiosynthese (Lehninger, 1975). In diesem Zusammenhang könnte die unter aeroben Bedingungen vergleichsweise hohe Acetatkonzentration in den Retraktoren von Bedeutung sein (s. Tab. 3, S. 64). Eine Funktion der Isocitratdehydrogenase bei der Bereitstellung von NADPH im Cytosol wurde von Gabbott und Head (1980) auch für andere fakultative Anaerobier postuliert. Der Pentosephosphatcyclus scheint nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (Zaba und Davies, 1981).

Die vorangegangenen Erörterungen zeigen, daß auch bei einem so einfach strukturierten Tier wie *Sipunculus nudus* eine metabolisierte Differenzierung zwischen verschiedenen Geweben und

auch verschiedenen Muskelgeweben vorliegt. Es bleibt festzuhalten, daß die Prozesse des anaeroben Energiestoffwechsels in den untersuchten Geweben prinzipiell gleichartig sind. Unterschiede finden sich im Energiebedarf, der von der Funktion der betreffenden Gewebe im Gesamtorganismus abhängt. Einzelfragen konnten im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht geklärt werden, so die Frage nach unterschiedlichen Metabolitbewegungen in Ring- und Längsmuskulatur bei biotopbedingter und funktionsbedingter Anaerobiose oder die Frage nach der Bedeutung eines unterschiedlichen Lipidstoffwechsels in Retraktoren, Coelomzellen und Hautmuskelschlauch.

4.2. Ökophysiologische Fragestellung: Stoffwechsel und O_2-Versorgung im Biotop

Bei den vorausgegangenen Erörterungen stellte sich bereits die Frage, ob die Anpassungen an hypoxe bzw. anoxe Zustände, die an frei im Wasser liegenden Tieren gefunden wurden, ohne weiteres auf die natürlichen Bedingungen im Biotop übertragbar sind. Das Leben des *Sipunculus* ist zum weitaus größten Teil an das Sediment gebunden. Nur selten sind die Tiere im freien Wasser z.B. schwimmend aktiv (s. 3.4., von Uexküll, 1903). Um Auskunft über die Bedeutung zu erhalten, die die erarbeiteten Anpassungen für das Leben im Biotop haben, wurde eine experimentelle Vorgehensweise erforderlich, die den Aufenthalt der Tiere in einer natürlichen Umgebung, also sandigem Sediment ermöglicht und die Tiere in ihrem natürlichen Verhalten nicht behindert. Da hierbei die Ökologie der Tiere berücksichtigt wird, scheint die Bezeichnung ökophysiologischer Ansatz gerechtfertigt. Ein solches Vorgehen wird durch die Verwendung von Kathetern ermöglicht, da auf diese Weise Coelomflüssigkeitsproben ohne Störung der Tiere genommen und Druckänderungen im Coelom aufgezeichnet werden können. Voraussetzung der nachfolgenden Betrachtungen ist also die Annahme, daß die durchgeführten Experimente tatsächlich biotopnahe Bedingungen berücksichtigten. Dies muß solange unbewiesen bleiben, bis sich die Ergebnisse aufgrund von Untersuchungen, die im Biotop der Tiere durchzuführen sind, bestätigen lassen. Solange diese Frage offen bleibt, darf bei Betrachtung der experimentellen Bedingungen z.B. nicht von tatsächlichem Niedrigwasser, sondern nur von simuliertem Niedrigwasser gesprochen werden. Eine Abweichung von den natürlichen Bedingungen ergibt sich z.B. schon dadurch, daß in diesen Experimenten Sand verwandt wurde, der aufgrund der experimentellen Handhabung mit durchlüftetem Seewasser durchspült war und kaum mehr sauerstoffzehrende Bestandteile enthielt.

Der Durchführung der ökophysiologisch orientierten Experimente ging eine Betrachtung der Lebensweise von *Sipunculus nudus* voraus (s. Kap. 3.4.). In Kenntnis des Lebensraumes (vergl. Edmonds, 1962), der Lebensweise und der Verbreitung der Tiere

wurden Situationen ausgewählt, die im Lebensraum der Tiere als möglich angesehen wurden und die deshalb im Experiment simuliert werden sollten (s. S. 129). Die Auswahl der Situationen beruht auf folgenden Überlegungen:

1. einmaliges Eingraben mit Erholung im Sand
   Die Auswahl dieser Situation beruht auf eigenen Beobachtungen. Tiere, die sich an der Oberfläche befinden, graben sich rasch ein und stellen im Sand eine Atemhöhle her.

2. erschöpfendes Graben mit Erholung im Sand
   Die Auswahl dieser Situation beruht auf der Annahme, daß bei starker Wasserbewegung im Lebensraum der Tiere starke Sedimentverschiebungen auftreten, die die Tiere verschütten (s. Situation 5), aber auch bei längerer Dauer immer wieder freilegen und zu wiederholtem Eingraben veranlassen können. Ein Erschöpfungszustand könnte auch bei ausgedehnter Grabtätigkeit im Sediment erreicht werden. Wird das Tier anschließend freigelegt, so muß es sich wiederum eingraben. Nach eigenen Beobachtungen scheinen die Tiere nach erschöpfender Grabtätigkeit nicht mehr in der Lage zu sein, eine Atemhöhle fertigzustellen und dadurch die Voraussetzung für eine normale respiratorische Tätigkeit zu schaffen. Sie graben sich nur so weit ein, daß gerade noch ihr caudales Ende zu sehen ist und zeigen offensichtlich unter diesen Bedingungen eine respiratorische Aktivität, bei der die Kontraktionswellen von hinten nach vorne laufen (s. 3.4.). Die morphologische Ausbildung des Hinterendes mit dicker Cuticula und glatter Oberfläche (Metalnikoff, 1900) könnte aufgrund des kieselähnlichen Aussehens eine Anpassung an diese Situation darstellen. Wie die Beobachtungen von Uexkülls am isolierten Nerv-Muskelpräparat zeigen, ist nicht nur die Muskulatur, sondern auch das Nervensystem vom Erschöpfungszustand betroffen und paßt sich den geänderten Bedingungen durch Umkehr der respiratorischen Bewegungen an. Eine solche Umschaltung konnte auch bei dem Sipunculiden *Phascolion strombi* gefunden werden (Kristensen, 1969). Die geschilderte Möglichkeit der Anpassung ist ein indirekter Hinweis darauf, daß die gewählte experimentelle Situation einer im Biotop möglichen Situation nahekommt.

3. Tiere im Sand bei Niedrigwasser (mit Atemhöhle)
Die Auswahl dieser Situation beruht auf der Tatsache, daß *Sipunculus nudus* in der Gezeitenzone leben kann und dort auch für die geschilderten Untersuchungen gesammelt wurde. Eigene Beobachtungen im Biotop zeigten, daß die Tiere bei Niedrigwasser zum Teil eine Atemhöhle beibehalten, daß einige Atemhöhlen jedoch durch Wellentätigkeit zerstört werden und daß die Tiere teilweise 20-30 cm tief im Sediment vergraben liegen, ohne daß Anzeichen eines Baues vorhanden sind. Es ist also möglich, daß die Tiere sich auch während des Niedrigwassers mit der Nahrungsaufnahme beschäftigen. Die ausgewählte experimentelle Situation umfaßt demnach nur einen Teil der bei Niedrigwasser möglichen Situationen. Außerdem wurde bereits erwähnt, daß *Sipunculus nudus* in der Gezeitenzone ausschließlich nahe der Niedrigwasserlinie und dabei meistens in einem Gebiet lebt, das nur zur Zeit der Springtide trockenfällt. Die Situation des Niedrigwassers ist für diese Tiere also eine seltene Situation, die auch nur kurzfristig (maximal 3-6 h) andauert. Lang anhaltendes Niedrigwasser ist extrem selten und wurde nur untersucht, um die Anpassungsfähigkeit an eine solche Situation zu ermitteln und die prinzipiellen Vorgänge im Tier deutlich zu machen.

4. Tiere im Sand bei extremer Hypoxie im Wasser
Die Auswahl dieser Situation beruht auf der Annahme, daß *Sipunculus nudus*, dessen Verbreitungsgebiet größere Meerestiefen umfaßt (Hyman, 1959), dort mit hypoxem bzw. anoxem Atemwasser konfrontiert sein kann. Eine solche Situation wurde zwar für *Sipunculus nudus* im Biotop noch nicht beschrieben; geringe Sauerstoffwerte konnten jedoch bei Schichtung von Wasser in größeren Meerestiefen gefunden werden (Tunnicliffe, 1981).

5. Tiere verschüttet
Bei starken Sedimentverschiebungen am Meeresgrund oder in der Gezeitenzone (s. auch unter Situation 2) wird die Sauerstoffversorgung der Tiere unterbrochen. Es ist vorstellbar, daß sich eine Phase längerfristiger Anaerobiose an-

schließt, die entweder mit Passivität oder befreiender Grabtätigkeit verbunden ist. Unter 3.5., S. 155, wurde geschildert, daß die Tiere auf ein Verschütten mit Grabtätigkeit reagieren, mit deren Hilfe sie den Introvert an die Oberfläche bringen.

In den geschilderten simulierten Situationen konnte durch die Betrachtung des Energiestoffwechsels und des P_{O_2} im Coelom Aufschluß darüber gewonnen werden, inwieweit sich die übliche Unterteilung in funktions- und biotopbedingte Anaerobiose (s. Einl.) auf die Bedingungen im Biotop übertragen läßt und in welchem Ausmaß der bei Sauerstoffmangel im Coelom vorliegende Sauerstoff zur O_2-Versorgung der Tiere beiträgt.

4.2.1. O_2-Versorgung im Biotop: Das respiratorische System des *Sipunculus nudus*

Sipunculus nudus bewohnt ein Biotop, in dem das Tier den vorangegangenen Überlegungen zufolge stark wechselnden Umweltbedingungen ausgesetzt sein kann. Sedimentverschiebungen, Niedrigwasser, Aktivität im anoxen Sediment erfordern eine Anpassung des respiratorischen Systems, die es dem Tier im Zusammenwirken mit einem anaeroben Stoffwechsel ermöglicht, in diesem extremen Biotop zu überleben. Von Interesse waren also im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen die wechselnden Bedingungen der O_2-Versorgung, denen das Tier passiv oder durch eigenes „Verschulden" ausgesetzt ist. Wichtige Aspekte der O_2-Versorgung wie O_2-Aufnahme, O_2-Versorgung der inneren Gewebe, Funktion des Atempigmentes bei Aerobiose und beim Übergang zur Anaerobiose sollen unter Berücksichtigung der natürlichen Gegebenheiten in diesem Kapitel erörtert werden. Von der Betrachtung ausgeschlossen werden osmotische Einflüsse auf die Respiration, die generell für Tiere wichtig werden können, die in der Gezeitenzone leben. Sipunculiden zeigen hier eine große Anpassungsfähigkeit als Osmokonformer (Oglesby, 1975, 1982). Die Abhängigkeit der O_2-Versorgung von der Temperatur wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen ebenfalls nicht berücksichtigt, obwohl das Haemerythrin in seinen O_2-Bindungseigenschaften eine starke Abhängigkeit von der Temperatur zeigt (s. Mangum, 1976).

Ein Einfluß von pH-Änderungen auf das respiratorische Pigment der Sipunculiden konnte bei den frühen Untersuchungen von Florkin (1933) nicht gefunden werden. Diese Ergebnisse wurden von Kubo (1953) und Bates et al. (1968) bestätigt. Änderungen im Säure-Basen-Haushalt (s. Kap. 4.3.) haben also auf die Funktion des Pigmentes keinen Einfluß.

Der O_2-Verbrauch ruhender Tiere im Sand konnte mit Hilfe eines Näherungsverfahrens bestimmt werden, das sich auf P_{O_2}-Messungen im Coelom, die Untersuchung der Abhängigkeit des P_{O_2} im Coelom und vom äußeren P_{O_2} und Messungen des Wasserflusses in der Atemhöhle stützt (s. Tab. 17, S. 131). Das angewandte Verfahren bedeutet deshalb eine Näherung, weil es von der Annahme ausgeht, daß bei im Sand befindlichen Tieren die gleiche Abhängigkeit zwischen dem P_{O_2} der Coelomflüssigkeit und dem P_{O_2} des Atemmilieus besteht wie bei Tieren, die im freien Wasser liegen. Da die Atemperistaltik ruhender Tiere verglichen mit der Grabtätigkeit nur eines geringen Kraftaufwandes bedarf, erscheint diese Annahme gerechtfertigt. Das Verfahren stellt die einzige Möglichkeit dar, den mittleren P_{O_2} des Atemwassers (nach Entnahme des O_2) zu bestimmen, da keine Egestionsöffnung existiert (vergl. Mangum, 1977). Der resultierende O_2-Verbrauch ist etwas größer, als Abb. 13, S. 95, und 14, S. 96, zufolge für den ermittelten P_{O_2} des Atemwassers zu erwarten gewesen wäre. Kleine Tiere verbrauchen demnach im Sand 741 nmol O_2 $g^{-1}h^{-1}$. Berücksichtigt man den O_2-Verbrauch der Coelomflüssigkeit mit 64 nmol $ml^{-1}h^{-1}$- dieser Verbrauch ist bei dem vorliegenden Ruhe-P_{O_2} von 36,2 Torr im Coelom und bei einem reduzierten Zellanteil der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere zu erwarten -, so ergibt sich für das Gewebe (Muskulatur) ein O_2-Verbrauch von 1474 nmol $g^{-1}h^{-1}$ entsprechend einer Durchflußrate der Glykogenolyse von 4,1 nmol $g^{-1}min^{-1}$.

Die Tatsache, daß der O_2-Verbrauch im Sand höher ist als im Wasser, ist wahrscheinlich auf die Atemaktivität der Tiere zurückzuführen. Kleine Tiere wenden im Sand aufgrund einer höheren Atemfrequenz mehr Kraft auf und verbrauchen auch relativ mehr Sauerstoff als große Tiere. Sicherlich ist der Grund dafür, daß große Tiere aufgrund einer größeren Körperoberfläche

bei gleicher Frequenz überproportional mehr Wasser transportieren können. Die gemessenen kontinuierlichen Flüsse (6,1 bzw. 7,3 ml $g^{-1}h^{-1}$) liegen im unteren Bereich der von Mangum (1976) für Anneliden, Echiuriden und Sipunculiden zusammengestellten Flüsse (z.B. *Arenicola marina* 14 bis 37 ml $g^{-1}h^{-1}$, *Phascolion strombi* 11-55 ml $g^{-1}h^{-1}$).

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, wie die O_2-Aufnahme während der Respiration im Sand erfolgt. Eine bedeutende O_2-Aufnahme über die Tentakeln läßt sich aufgrund der Untersuchungen von Florkin (1933) und der Beobachtungen zur Lebensweise (s. Kap. 3.4.) ausschließen, da die Tentakeln während der respiratorischen Tätigkeit nur selten ausgefahren werden. Aufgrund der bis zum Hinterende verlaufenden Atemperistaltik ist anzunehmen, daß die O_2-Aufnahme über den gesamten Hautmuskelschlauch erfolgt. Durch die Atemperistaltik und die Tätigkeit der ciliar beweglichen Urnen des *Sipunculus nudus* erfolgt eine Durchmischung der Coelomflüssigkeit, so daß davon ausgegangen werden kann, daß im Coelom ein einheitlicher P_{O_2} herrscht. Der O_2-Gradient über den Hautmuskelschlauch ist im Sand sicherlich nicht wie im freien Wasser in allen Körperbereichen einheitlich, sondern nimmt vom Vorderende zum Hinterende ab, weil der O_2-Gehalt des Atemwassers wahrscheinlich in dieser Richtung fällt.

Verfolgt man das Verhalten der Coelomflüssigkeit in den Coelomkanälen, so läßt sich anhand der Wanderung größerer Partikel äußerlich beobachten, daß die Kontraktion des Hautmuskelschlauches hier einen Einfluß auf die Flüssigkeitsbewegung hat und wahrscheinlich eine Durchmischung der Coelomflüssigkeit aus den Kanälen mit der Coelomflüssigkeit im Hauptcoelom fördert. Da die Coelomkanäle in regelmäßigen Abständen über Poren mit dem Hauptcoelom verbunden sind (Hyman, 1959), sorgt wahrscheinlich eine mit der Atemperistaltik gekoppelte rhythmische Dilatation und Konstriktion der einzelnen Kanalabschnitte dafür, daß die Coelomflüssigkeit ständig mit Sauerstoff angereichert wird. Bei der Dilatation dringt O_2-arme Coelomflüssigkeit in die Kanäle, nimmt dort Sauerstoff auf

und wird bei der nachfolgenden Verengung in das Hauptcoelom abgegeben. Natürlich ist dies alles nicht im Sinne eines gerichteten Sauerstofftransportes zu verstehen, sondern es findet eine ständige Durchmischung von „venöser" und „arterieller" Coelomflüssigkeit statt.

O_2-Aufnahme und -Verteilung hängen also direkt von der Aktivität der Tiere ab, so daß mit Hilfe der Atemperistaltik unter Ruhebedingungen ein P_{O_2} im Coelom aufrecht erhalten werden kann, der oberhalb des P_c der inneren Organe liegt. Dieser Ruhe-P_{O_2} hängt jedoch nicht nur von der Aktivität der Tiere ab, sondern offensichtlich auch von der Korngröße des Sandes, in dem die Tiere ihre Atemhöhle hergestellt haben. Kleine Tiere erreichen im gleichen Sand mit 36,2 ± 6,8 Torr einen höheren Ruhe-P_{O_2} als große Tiere mit 14,9 ± 6,1 Torr. In feinkörnigem Sand aus ihrem Biotop (Morgat) nimmt der Ruhe-P_{O_2} im Coelom kleiner Tiere jedoch mit 18,0 ± 6,2 Torr den gleichen Wert an wie im Coelom großer Tiere (18,8 ± 8,9 Torr), die sich in grobkörnigem Sand aus ihrem Biotop (Locquémeau) befinden.

Der O_2-Gehalt des Biotopes wird hauptsächlich von der Korngröße des Sandes bestimmt (Brafield, 1978). Feinkörniger Sand enthält weniger Sauerstoff als grobkörniger Sand. Dies spielt jedoch nur für die Interstitialfauna eine Rolle (Jansson, 1967; Dye, 1981). Für *Sipunculus nudus* ist wahrscheinlich nicht so sehr der O_2-Gehalt des Sandes maßgebend, sondern die Fähigkeit, sich im Sand mit O_2-reichem Oberflächenwasser zu versorgen. Da *Sipunculus nudus* einen einfachen Bau herstellt, der nur eine Einströmöffnung und keine Ausströmöffnung besitzt, muß das Tier das einströmende Wasser seitwärts und nach hinten in den Sand drücken. Tiere, die sich in feinem Sand befinden, haben dabei aufgrund des kleineren Interstitialvolumens größere Schwierigkeiten als Tiere, die sich in grobem Sand befinden. Das Volumen des nachgesogenen O_2-reichen Wassers hängt aber direkt von dem Volumen des in den Sand gedrückten Wassers ab. Aus diesem Grund ist bei kleinen Tieren im Sand aus Morgat ein niedrigerer Ruhe-P_{O_2} im Coelom zu finden als bei kleinen Tieren, die sich in gröberem Sand befinden.

Auf der Grundlage dieser Überlegungen läßt sich im Zusammenhang mit den Erörterungen zur Abhängigkeit des Modus der Energiegewinnung vom P_{O_2} (vergl. Kap. 4.1.1.c, S. 237ff.) die Frage beantworten, warum die Tiere aus Morgat und Locquémeau in Sand unterschiedlicher Korngröße leben und dabei eine unterschiedliche Körpergröße aufweisen. Der P_c der kleinen Tiere liegt niedriger als der P_c großer Tiere, d.h., kleine Tiere können bei niedrigeren P_{O_2}-Werten einen rein aeroben Stoffwechsel aufrechterhalten als große Tiere. Kleine Tiere müssen zur Aufrechterhaltung des gleichen Ruhe-P_{O_2} im Coelom weniger Wasser in die Atemhöhle pumpen als große Tiere. In gleichem Sand reicht bereits ein Drittel der von großen Tieren gepumpten Wassermenge aus, um bei kleinen Tieren einen höheren P_{O_2} im Coelom zu ermöglichen. In feinkörnigem Sand wird der Wassertransport zusätzlich behindert, so daß noch weniger Wasser einströmt und kleine Tiere den gleichen Ruhe-P_{O_2} zeigen wie große Tiere in grobem Sand. Große Tiere wären also wahrscheinlich nicht in der Lage, in feinem Sand einen aeroben Stoffwechsel aufrechtzuerhalten, so daß allein kleine Exemplare von *Sipunculus nudus* diese ökologische Nische besiedeln können. Die schlechtere Möglichkeit großer Tiere, sich mit Sauerstoff aus dem Atemmedium zu versorgen, ist wahrscheinlich der Grund dafür, daß sie über einen höheren Hämatokrit und damit über eine höhere O_2-Kapazität der Coelomflüssigkeit verfügen als kleinere Tiere. Auf der anderen Seite mag z.B. die höhere Korngröße des Sandes, die vielleicht schon die Nahrungsaufnahme kleiner Tiere erschwert, ein Grund dafür sein, warum im groben Sand bei Locquémeau nur große Tiere zu finden sind.

Ein wichtiger Bestandteil des respiratorischen Systems von *Sipunculus nudus* ist das Atempigment Haemerythrin. Zu Beginn dieser Erörterungen wurden bereits Einflüsse des Säure-Basen-Haushaltes auf das respiratorische Pigment ausgeschlossen. Vereinfachend kommt hinzu, daß im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen keinerlei Kooperativität des Pigmentes gefunden werden konnte ($n \cong 1$). Florkin (1933) und Bates et al. (1968) beschreiben dagegen eine geringe Wechselwirkung der O_2-Bindungszentren ($n \cong 1{,}1$). Die Messungen dieser Autoren wurden aller-

dings bei einer etwas höheren Temperatur von ca. 20 °C durchgeführt. Klippenstein (1980) faßt die Untersuchungen am Haemerythrin von Sipunculiden, Priapuliden, Brachiopoden und Anneliden zusammen und vernachlässigt gefundene Werte von 1,1 oder 1,2 dahingehend, daß er von einer Kooperativität nur beim Haemerythrin des Brachiopoden Lingula mit $n = 1,7 - 1,8$ (s. Manwell, 1960a) spricht. Bei Lingula-Haemerythrin tritt übrigens im Gegensatz zu allen anderen bekannten Haemerythrinen auch ein Bohr-Effekt auf. Priapuliden- und Annelidenhaemerythrin sind also in dieser Hinsicht eher mit Sipunculidenhaemerythrin vergleichbar (s. Weber et al., 1979; Wells und Dales, 1974). Die einzige Differenzierung, die bei Sipunculidenhaemerythrin beobachtet werden konnte, ist die Ausbildung von Pigmenten unterschiedlicher O_2-Affinität für Coelomflüssigkeit, Gefäßflüssigkeit (Polische Gefäße) und Muskulatur (Myohaemerythrin) (Manwell, 1960b, 1963; Klippenstein et al., 1972) entsprechend dem Weg der O_2-Versorgung (s. bes. Manwell, 1960b). Für *Sipunculus nudus* liegen keine derartigen Untersuchungen vor, jedoch ist die Art nach den bisherigen Ausführungen mit dem grabenden Sipunculiden *Siphonosoma ingens* vergleichbar, der die Tentakeln vornehmlich zur Nahrungsaufnahme verwendet und dessen Gasaustausch über den Hautmuskelschlauch erfolgt. Hier hat das vasculäre Haemerythrin eine höhere O_2-Affinität als das Haemerythrin der Coelomflüssigkeit, da die O_2-Versorgung der Tentakeln aus der Coelomflüssigkeit erfolgt (s. Manwell, 1960b).

Nach all diesen Befunden läßt sich die Fragestellung dahingehend umkehren, warum das Haemerythrin von *Sipunculus nudus* und weiteren Sipunculiden keinen pH-bedingten Bohr-, Haldane- oder Root-Effekt oder keine Kooperativität zeigt, zumal offensichtlich nicht gesagt werden kann, daß das Fehlen dieser Eigenschaften einen primitiven Zustand repräsentiert (Manwell, 1960a). Vielmehr ist das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein dieser Eigenschaften mit der Ökologie der Tiere zu korrelieren. Das gleiche gilt bei der Erörterung einer hohen oder einer niedrigen O_2-Affinität bzw. -Kapazität im Vergleich verschiedener Tiere. Vergleiche sind nur unter Tieren ähnlicher Lebensräume sinnvoll, und erarbeitete unterschiedliche Eigen-

schaften der Atempigmente geben letztendlich Auskunft über unterschiedliche Kreislaufsysteme, Umweltbedingungen und Lebensgewohnheiten, sind also nie isoliert von den betreffenden Organismen zu betrachten. Ein Vergleich der Eigenschaften von Atempigmenten ist demnach müßig, solange nicht die Funktion der Atempigmente in den betreffenden Tieren erfaßt ist. Eine Methode der Annäherung an die Aufklärung dieser Funktion stellt die Analyse der Bindungsverhältnisse des Pigmentes und die Messung des P_{O_2} in der betreffenden Körperflüssigkeit in Abhängigkeit vom äußeren P_{O_2} und unter verschiedenen natürlichen Bedingungen dar. Auf diese Weise kann der Beitrag des Atempigmentes zum Sauerstofftransport bzw. zur Sauerstoffversorgung des Tieres ermittelt werden. Da *Sipunculus nudus* in einem sauerstoffarmen Biotop lebt, ist für dieses Tier besonders die Frage interessant, ob das Haemerythrin Transport- und/oder Speicherfunktion besitzt (s. Einl.; Jones, 1972). Betrachtet man nun die Eigenschaften des Pigmentes von *Sipunculus nudus* im Zusammenhang mit der Lebensweise und der O_2-Versorgung der Tiere, so zeigt sich, daß das Haemerythrin in seinen Eigenschaften gut auf die Bedingungen der O_2-Versorgung bzw. auf den von den Tieren in ihrem jeweiligen Biotop aufrecht erhaltenen Ruhe-P_{O_2} im Coelom von durchschnittlich 18 Torr (bei 15 °C) eingestellt ist:

Bei P_{O_2} = 18 Torr ist das Haemerythrin zu 85 % mit O_2 gesättigt. Der P_{50} beträgt ca. 3 Torr. Während der respiratorischen Tätigkeit werden „efferentes und afferentes Blut" ständig durchmischt. Ausdifferenzierte Eigenschaften des Pigmentes wie Haldane- und Bohreffekt sowie Kooperativität erscheinen daher für die O_2-Versorgung der inneren Gewebe überflüssig. Die Frage ist nun, ob das Haemerythrin unter Ruhebedingungen in die O_2-Versorgung des Tieres einbezogen ist. Es würde z.B. Transportfunktion besitzen, wenn innerhalb der Coelomflüssigkeit ein O_2-Gradient vom Ort der O_2-Aufnahme zum Ort der O_2-Abgabe besteht und wenn der P_{O_2} am Ort der Abgabe eine Freisetzung des Sauerstoffes vom Pigment erlaubt. Da die Coelomkanäle als wesentlicher Ort der O_2-Aufnahme besseren Kontakt mit dem Atemmedium haben als das Hauptcoelom, ist nicht ausgeschlossen, daß der P_{O_2} in den Coelomkanälen etwas höher liegt. In der

hinteren Hälfte der Tiere, also dort, wo bei Existenz eines Gradienten theoretisch der niedrigere P_{O_2} vorliegen müßte, wurde jedoch ein Ruhe-P_{O_2} gemessen, der noch im Sättigungsbereich der O_2-Bindungskurve liegt. Außerdem ist innerhalb des Hauptcoeloms ein O_2-Gradient aufgrund der Durchmischung der Coelomflüssigkeit unwahrscheinlich. Unter Ruhebedingungen kann die Transportfunktion des Pigmentes also nicht groß sein. Sie kann jedoch trotzdem nicht ganz ausgeschlossen werden, da die Anwesenheit von Atempigmenten nach Kreuzer (1970) eine Diffusion des Sauerstoffes in der Körperflüssigkeit oder im Gewebe erleichtert. Dies konnte auch für das Haemerythrin gezeigt werden (Wittenberg, 1963).

Die Frage ist nun, wann überhaupt Sauerstoff in größeren Mengen vom Haemerythrin freigesetzt wird. Wenn dies unter Ruhebedingungen nicht der Fall ist, so sind zusätzlich die Situationen zu betrachten, in denen das Tier einem O_2-Mangel ausgesetzt sein kann. Den vorliegenden Ergebnissen zufolge sinkt der P_{O_2} in fast sämtlichen simulierten Situationen der funktions- und biotopbedingten Anaerobiose bis auf Werte unterhalb des P_{50} bzw. bis auf 0 Torr ab. Dies gilt z.B. für Grabtätigkeit, soweit sie im Sediment durchgeführt wird, bzw. für die erste Zeit der Erholung (im Sediment) nach dem Graben und gilt auch für die Simulation des Niedrigwassers. Unter den geschilderten Bedingungen setzt das Haemerythrin Sauerstoff frei, weil die O_2-Versorgung von außen schlechter wird. Dies ist ein eindeutiger Hinweis darauf, daß unter Ruhebedingungen ein O_2-Vorrat in der Coelomflüssigkeit angelegt wird, der in den Zeiten des Sauerstoffmangels die Fortsetzung eines partiell aeroben Energiestoffwechsels erlaubt. Der Anteil der aeroben ATP-Gewinnung beträgt bis zur Fertigstellung der Atemhöhle immerhin 25 % und in den ersten Stunden einer Anaerobiose im freien Wasser immerhin 30 %.

Nach Weber et al. (1979) wird die Annahme, daß ein Pigment überwiegend eine Speicherfunktion hat, durch das Vorliegen einer hyperbolischen Sättigungskurve gestützt, die es im Gegensatz zu einer sigmoiden Kurve ermöglicht, hauptsächlich bei niedrigen P_{O_2}-Werten Sauerstoff freizusetzen. Nach Manwell (1960c) und Jones (1972) haben Pigmente, die in einer Coelom-

flüssigkeit vorliegen, generell und überwiegend Speicherfunktion, da kein gerichteter Flüssigkeitsstrom vom Ort der Sauerstoffaufnahme zum Ort des Sauerstoffverbrauches existiert.

Unter Bedingungen des O_2-Mangels könnte jedoch aufgrund des erniedrigten P_{O_2} im Coelom auch eine verstärkte Transportfunktion des Haemerythrins hinzukommen, weil dann am Ort des Verbrauches vermehrt Sauerstoff vom Pigment freigesetzt werden kann. Dies gilt wiederum nur unter der Annahme, daß ein O_2-Gradient vom Ort der O_2-Aufnahme (Coelomkanäle) zum Ort des O_2-Verbrauches (z.B. Retraktoren) besteht. Die Existenz eines Gradienten wäre z.B. bei Aktivität im freien Wasser (Schwimmen, s. Kap. 3.4.) denkbar, wenn sich aufgrund eines erhöhten O_2-Verbrauches des Hautmuskelschlauches das Gleichgewicht zwischen äußerem und innerem P_{O_2} verschiebt und der P_{O_2} im Coelom abnimmt. Ein solcher Vorgang entspricht der Ausnutzung einer venösen Reserve bei Tieren mit Kreislaufsystemen, wie sie z.B. von Johansen et al. (1970) und Mangum (1980) für aktive Invertebraten wie Krabben und Cephalopoden diskutiert wird. Diese Tiere greifen erst dann auf einen großen Teil des pigmentgebundenen Sauerstoffes zurück, wenn der Sauerstoffverbrauch der Gewebe steigt und daraufhin der venöse P_{O_2} abfällt.

Während einer Erholungsphase, sei es von einer biotopbedingten Anaerobiose oder von einer Grabperiode, kann die Transportfunktion ebenfalls von größerer Bedeutung sein, und zwar solange, bis der Ruhewert des P_{O_2} wieder annähernd erreicht ist. Generell gilt also für *Sipunculus nudus*, daß eine Transportfunktion des Haemerythrin nicht ausgeschlossen werden kann, solange der P_{O_2} am Ort des Verbrauches eine Freisetzung des Sauerstoffes vom Haemerythrin möglich macht. Eine ausschließliche Speicherfunktion des Pigmentes liegt sicherlich vor, wenn das Tier z.B. bei Grabtätigkeit im anaeroben Sediment oder bei Sedimentverwerfungen vollkommen von der O_2-Zufuhr abgeschnitten wird. Insgesamt scheint das Haemerythrin von *Sipunculus nudus* in seinen Eigenschaften hauptsächlich für Situationen des Sauerstoffmangels konzipiert zu sein (s. Jones, 1972, „emergency function").

Vergleicht man die Eigenschaften des Haemerythrins von *Sipun-*

culus nudus mit denen der Pigmente anderer Sipunculiden, so zeigt sich zunächst bei vergleichbarer Temperatur, daß der P_{50} und damit die O_2-Affinität des Haemerythrins von *Sipunculus nudus* größenordnungsmäßig der O_2-Affinität des Haemerythrins anderer Sipunculiden entspricht (s. Zusammenstellung bei Mangum, 1976; Wells und Dales, 1974). In Anpassung an die Lebensweise treten dabei Abweichungen zu höheren oder niedrigeren O_2-Affinitäten auf (s. z.B. Manwell, 1960b). Niedrige Affinitäten weisen die Haemerythrine der Priapuliden (Weber et al., 1979) und der Annelidengattung *Magelona* (Wells und Dales, 1974) auf, eine Tatsache, die sich durch den Aufenthalt in O_2-reicheren Lebensräumen erklären läßt.

Im Vergleich zu grabenden Anneliden zeigen sich ebenfalls Übereinstimmungen in der O_2-Affinität der Pigmente (Mangum, 1976 ; Weber, 1978), soweit es sich um Tiere handelt, die sich in vergleichbar O_2-armen Lebensräumen aufhalten wie *Sipunculus nudus*. Dies gilt z.B. für *Arenicola marina*.

Für etliche Sipunculiden und Anneliden der Infauna wird wie oben für *Sipunculus nudus* diskutiert, daß deren Atempigmente neben einer Transportfunktion eine Speicherfunktion haben (für Sipunculiden s. Mangum und Kondon, 1975; Wells und Dales, 1974; Edmonds, 1957; Manwell, 1960b; für Anneliden s. Hoffmann und Mangum, 1970; Mangum, 1970; Mangum und Carhart, 1972; Mangum et al., 1975; Jones, 1972). Die Atempigmente anderer Invertebraten wie Brachiopoden, Mollusken, Insekten und Crustaceen sind ebenfalls in diese Überlegungen miteinbezogen (Manwell, 1960a; Miller et al., 1976; Weber, 1980). Dabei scheint sich als wesentliche Anpassung herauszukristallisieren, daß die Sauerstoffaffinität eines Atempigmentes mit abnehmendem Sauerstoffgehalt des Lebensraumes und mit zunehmender Wahrscheinlichkeit einer Hypoxie steigt.

Für *Sipunculus nudus* stellt sich nun die Frage, wie lange der Sauerstoffspeicher ausreicht, einen aeroben Stoffwechsel aufrechtzuerhalten. Dabei ist zwischen biotopbedingter und funktionsbedingter Anaerobiose zu unterscheiden.

4.2.2. Simulation einer funktionsbedingten Anaerobiose

Wenn *Sipunculus nudus* bei Aktivität Sauerstoff aus der Coelomflüssigkeit verbraucht, so kann dies entweder bei gleichbleibender O_2-Versorgung von außen erfolgen (z.B. Schwimmen) oder bei Grabtätigkeit im hypoxen und anoxen Sediment. Im ersten Fall würde der O_2-Verbrauch aus dem Coelom der Ausnutzung einer „venösen" Reserve entsprechen, im zweiten Fall dem Verbrauch eines O_2-Vorrates. Im Experiment reichte der O_2-Speicher aus, um bei Grabtätigkeit bis zur Fertigstellung der Atemhöhle innerhalb von durchschnittlich 45 min einen partiell aeroben Stoffwechsel aufrecht zu erhalten. Vernachlässigt man eine O_2-Aufnahme von außen, so betrug der aerobe Anteil an der ATP-Gewinnung 25 %. Weitere Einzelheiten des Energiestoffwechsels während einmaliger und intensiver Grabtätigkeit wurden bereits diskutiert (s. Kap. 4.1.2.). Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang noch einmal, daß die biochemische Ausstattung der Muskulatur von *Sipunculus* zwar mit der Ausstattung der Muskulatur schneller Invertebraten wie Cephalopoden oder Pecteniden vergleichbar ist, daß die Aktivitätsperiode des *Sipunculus* jedoch sehr viel länger andauert als bei den genannten Tieren. Die Kapazität der Muskulatur für einen anaeroben Stoffwechsel scheint, abgesehen von einer relativ schnellen Reaktionsfähigkeit, nicht nur in Notsituationen (Flucht), sondern auch während „alltäglicher" Exkursionen in das anaerobe Sediment wichtig zu sein, die der Nahrungsaufnahme der Tiere dienen. Diese Exkursionen werden zunächst hauptsächlich vom reichlich vorhandenen Phosphagen und von dem O_2-Vorrat „finanziert", den das Tier in seiner Coelomflüssigkeit mit sich trägt. Bei längerer Grabtätigkeit gewinnt die Octopinbildung an Bedeutung.

Bei der Erörterung der funktionsbedingten Anaerobiose wurde bereits angesprochen, daß bei Aktivität auch Prozesse im Stoffwechsel einsetzen, die für eine biotopbedingte Anaerobiose charakteristisch sind. Berücksichtigt man, daß *Sipunculus nudus* zur Nahrungsaufnahme im anoxen Sediment graben muß (Hyman, 1959), so ist diese Tätigkeit im Übergangsbereich zwischen biotop- und funktionsbedingter Anaerobiose einzuordnen (s. Einl.). Damit ist die Bedeutung der Succinatgärung allein für

eine biotopbedingte Anaerobiose in Frage gestellt. Sie wird in den physiologischen Situationen wichtig, die zu einer Verknappung des Sauerstoffes für die Mitochondrien führen, und dient in erster Linie dazu, die Funktions- und Lebensfähigkeit der Mitochondrien aufrechtzuerhalten. In diesem Sinne ist dann auch zu verstehen, daß Succinat bei Vertebraten gebildet wird, obwohl es kaum eine quantitative Bedeutung bei der Energiegewinnung hat (Fréminet, 1981; van den Thillart, 1982).

Nach einer Grabperiode sind die Tiere bestrebt, wieder Kontakt mit dem sauerstoffreichen Oberflächenwasser aufzunehmen, sei es über eine Atemhöhle, die am Vorderende angelegt wird, oder in einer Position, in der sich das Hinterende direkt an der Sandoberfläche befindet. Die Tiere benötigen 6-8 h, um sich in einer dieser beiden Positionen von der Grabtätigkeit zu erholen. Bei *Placopecten magellanicus* wurde nach der Aktivität eine lange Erholungsphase von bis zu 24 h beobachtet (Livingstone et al., 1981). *Chlamys opercularis* ist dagegen bereits nach ca. 2 h wieder erholt (Grieshaber, 1978).

Während der Erholungsphase kehren physiologische Parameter (pH, Bicarbonatkonzentration, P_{CO_2}, P_{O_2}) und Parameter des Energiestoffwechsels (Octopinkonzentration, Succinatkonzentration, Quotient $[PLA]/[L\text{-}Arg]$) in die Nähe der Ruhewerte zurück. In der ersten Stunde nach Beendigung der Grabtätigkeit scheinen sich jedoch einige aktivitätsbedingte Veränderungen zunächst fortzusetzen. Dies gilt für die Octopinkonzentration und den Quotienten $[PLA]/[L\text{-}Arg]$ nach Fertigstellung der Atemhöhle (s. Abb. 48, S. 136) sowie für den P_{O_2} im Coelom und die Succinatkonzentration im Gewebe nach intensiver Grabtätigkeit (s. Abb. 49, S. 139, und 50, S.140). Allerdings ist die Zunahme der gesamten Parameter aufgrund der Streuung der Werte nicht signifikant. Ob die Octopinkonzentrationen und der Quotient der Konzentrationen von Phospho-L-Arginin und L-Arginin wirklich nach dem Graben noch zunehmen bzw. abnehmen, ist auch deshalb nicht sicher zu entscheiden, weil die zu verschiedenen Zeiten der Erholung aufgearbeiteten Tiere bis zur Fertigstellung der Atemhöhle quan-

titativ unterschiedliche Arbeit geleistet hatten. Die Tatsache, daß bei erschöpfender Grabtätigkeit keine weitere Octopinakkumulation bzw. keine weitere Abnahme von [PLA]/[L-Arg] gefunden werden konnten, spricht dagegen, daß diese Prozesse nach Beendigung der Grabtätigkeit prinzipiell fortgesetzt werden (s. Abb. 50, S. 140). Allerdings wurden die ersten Messungen erst nach 1 h Erholung durchgeführt, so daß über die während dieser Zeit ablaufenden Vorgänge keine Aussage gemacht werden kann.

Bei Pecteniden wurde in der ersten Erholungsphase eine Fortsetzung der Octopinakkumulation gefunden (s. z.B. Grieshaber, 1978). Wie bereits diskutiert, scheint hier die Octopinbildung in erster Linie im Dienste einer raschen Auffüllung des Energieinhaltes zu stehen. Fitts und Holloszy (1976) fanden am erschöpften Froschmuskel mit einsetzender aerober Erholung keine Fortsetzung der anaeroben Glykogenolyse. Angaben über den Energieinhalt wurden von den Autoren nicht gemacht. Ambrosoli und Cerretelli (1973) konnten am Froschmuskel nachweisen, daß die anaerobe Glykogenolyse während einer anaeroben Erholung auch an der Resynthese des Phosphagens beteiligt ist, eine Tatsache, die einleuchtet, wenn man bedenkt, daß die Konzentration des Phosphagens mit der von ATP und ADP im Gleichgewicht steht (vergl. Beis und Newsholme, 1975).

Da für *Sipunculus nudus* nicht gefunden werden konnte, daß der Energieinhalt bei Aktivität abnimmt - dies gilt in erster Linie für den Hautmuskelschlauch - scheint nach diesen Überlegungen erklärlich, warum während der Erholung keine deutliche Zunahme des Octopingehaltes gefunden werden konnte (s.o.). Weitere Untersuchungen sind jedoch erforderlich, die die Regulation der Glykogenolyse zum Gegenstand haben (s.a. S. 269ff.). Unklar ist z.B. noch, ob das Ausmaß, in welchem das Phosphagen während der Aktivität abgebaut wurde, den Glykogenolyseflux während der Erholung beeinflussen kann.

Während der ersten 4 h der Erholung nach erschöpfendem Graben wird weder Octopin in größeren Mengen abgebaut noch Phosphagen in größeren Mengen resynthetisiert. Es ist denkbar, daß der O_2-Bedarf der Tiere nach Beendigung des Grabens zunächst größer ist als die O_2-Zufuhr durch die einsetzende Atemperistaltik. Dies trifft sicherlich zu, da bei konstant hoch bleiben-

der Octopinkonzentration und konstant niedrig bleibendem Quotienten [PLA] / [L-Arg] ein weiterer leichter (nicht signifikanter) Anstieg der Succinatkonzentration festzustellen war, der auch zu einer geringen Succinatabgabe in die Coelomflüssigkeit führte. Erst als die Succinatkonzentration bereits wieder reduziert wurde, nahm auch der Octopingehalt ab und der Quotient [PLA] / [L-Arg] zu. Eine genügende O_2-Versorgung scheint also Voraussetzung dafür zu sein, daß angehäuftes Octopin metabolisiert werden kann. Diese Voraussetzung ist offensichtlich in der ersten Zeit der Erholung nicht unbedingt erfüllt, woraus eine Verzögerung der aeroben Erholung resultiert. Dies gilt, obwohl gerade in der ersten Zeit der Erholung eine hohe Atemfrequenz meßbar ist (Tab. 15, S. 126). Eine Abhängigkeit der genannten Erholungsprozesse von der Sauerstoffversorgung wird von Grieshaber (1978) und Livingstone et al. (1981) auch für Pectiniden diskutiert.

4.2.3. Simulation einer biotopbedingten Anaerobiose

Wenn *Sipunculus nudus* bei Hypoxie seinen O_2-Vorrat angreift, so geht die Abnahme des O_2-Gehaltes in der Coelomflüssigkeit mit einer zunehmenden Beteiligung des anaeroben Stoffwechsels einher. Der O_2-Verbrauch aus der Coelomflüssigkeit nimmt dabei mit sinkendem O_2-Gehalt ab (vergl. Mangum, 1970) und ist außerdem sicherlich vom Energieumsatz des Tieres in den ersten Stunden der Anaerobiose abhängig. Im freien Wasser wurde für *Sipunculus nudus* bei abnehmendem P_{O_2} bis hinab zu einem P_c eine lineare Reduktion des O_2-Verbrauches gefunden, die einer linearen Reduktion des Energieumsatzes entsprach. Diese Abnahme eines rein aeroben Umsatzes kann bis auf 35 % des Umsatzes bei Normoxie erfolgen. Ein rasch einsetzender O_2-Mangel bringt jedoch, ausgehend von der aeroben Stoffwechselrate unter normoxen Bedingungen, keine entsprechend rasche Reduktion des Energieumsatzes mit sich. In den ersten 2 h einer Anaerobiose beträgt der Energieumsatz durchschnittlich 63 % des Umsatzes bei Normoxie. Innerhalb dieser Zeit wird der O_2-Vorrat in der Coelomflüssigkeit verbraucht. Ein ähnlich langer Zeitraum wurde von Mangum (1976) für den Sipunculiden *Phascolopis gouldi*

angegeben. Edmonds (1957) berichtete von einer Zeit von 6 h bei *Dendrostomum cymodoceae*. Für Anneliden wurden in der Regel kürzere Zeiten als 2 h gefunden (Weber, 1978).

Bei *Sipunculus nudus* liefert der O_2-Vorrat unter den geschilderten Bedingungen 30 % des umgesetzten ATPs. Hieraus wird deutlich, daß der O_2-Vorrat ebenso wie das Phosphagen bei biotopbedingter Anaerobiose eine Überbrückungshilfe darstellt, die bei hohem Energieverbrauch eine frühzeitige starke Akkumulation anaerob gebildeter Metabolite verhindern hilft.

Diese Überlegungen zeigen, daß für die Abschätzung der quantitativen Bedeutung des O_2-Speichers O_2-Messungen im Coelom in Verbindung mit Untersuchungen des anaeroben Energiestoffwechsels und gegebenenfalls O_2-Verbrauchsmessungen unerläßlich sind. Im folgenden soll die Beziehung zwischen O_2-Versorgung, O_2-Vorrat und Energiestoffwechsel bei biotopbedingter Anaerobiose unter simulierten natürlichen Bedingungen erörtert werden. Hierfür wurden die Situationen des Niedrigwassers, der extremen Hypoxie im Atemwasser und der Sedimentverwerfungen ausgewählt. Die letztgenannte Situation ist mit befreiender Grabaktivität der Tiere verbunden, stellt also eine Situation dar, die partiell der funktionsbedingten Anaerobiose, partiell der biotopbedingten Anaerobiose zugeordnet werden muß. Sie entspricht dem in der Einleitung angesprochenen Übergangsbereich zwischen funktions- und biotopbedingter Anaerobiose, der dadurch charakterisiert ist, daß Tiere sich aktiv in einem sauerstoffarmen Lebensraum bewegen.

Eine genauere Analyse des Energiestoffwechsels erfolgte lediglich für die Situation des Niedrigwassers. Prinzipiell werden in dieser Situation die gleichen Wege der anaeroben Energiegewinnung genutzt wie bei Anaerobiose im freien Wasser. Dies konnten auch Schöttler (1982) bei *Nereis diversicolor* sowie Surholt (in Vorb.) und Pionetti und Toulmond (1980) bei *Arenicola marina* beobachten. In den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich jedoch im zeitlichen Verlauf der Änderungen und in der energetischen Beanspruchung während der ersten Stunden des simulierten Niedrigwassers ein deutlicher Unterschied zur Anaerobiose im freien Wasser. Propionat und Acetat wurden im

Gewebe während der ersten drei Stunden des Niedrigwassers in einer Rate (0,36 bzw. 0,19 µmol $g^{-1}h^{-1}$) angehäuft, die bei Anaerobiose im Wasser in dieser Zeit nicht und für Propionat auch später nicht erreicht wurde. Die Fettsäuren verließen das Gewebe nur in vernachlässigbar geringem Ausmaß, da in der Coelomflüssigkeit kein starker Konzentrationsanstieg gefunden werden konnte. Im interstitiellen Wasser des Sandes ist daher ebenfalls keine Anreicherung der Fettsäuren zu erwarten, da die Abgabe an die Coelomflüssigkeit leichter erfolgt. Hier werden bei Anaerobiose im freien Wasser höhere Konzentrationen gefunden als im Inkubationswasser. Diese Überlegungen gelten jedoch nur, wenn die Metabolite das Tier passiv verlassen. Hierüber liegen noch keine Untersuchungen vor.

Succinat wurde während der ersten 3 Stunden Niedrigwasser mit 0,11 µmol $g^{-1}h^{-1}$in einer ähnlich hohen Rate angehäuft wie in dieser Zeit bei Anaerobiose im Wasser. Weiterhin trat eine Octopinbildung auf, deren Rate mit 0,48 µmol $g^{-1}h^{-1}$die Syntheserate bei Anaerobiose im Wasser (0,20 µmol $g^{-1}h^{-1}$) ebenfalls überstieg. Der O_2-Vorrat in der Coelomflüssigkeit wurde während dieser Zeit bei großen Tieren fast vollständig, bei den kleinen Tieren zu über 50 % verbraucht. Nach 6 h lag auch bei kleinen Tieren kein Sauerstoff mehr im Coelom vor.

Aus den gemessenen Konzentrationsänderungen und dem Sauerstoffverbrauch aus der Coelomflüssigkeit läßt sich für die ersten drei Stunden des Niedrigwassers berechnen, daß der Glykogenolysefluß mindestens 10,4 nmol $g^{-1}min^{-1}$ betragen hat. Dieser Wert gilt, wenn eine Metabolisierung von Aminosäuren zu einer stöchiometrischen Alaninbildung führt. Die angegebene Flußrate stellt einen Minimalwert dar, weil die Tiere wahrscheinlich weiterhin exogenen Sauerstoff verbrauchten (s.u.). Ausgehend von einem Ruhewert von 4,1 nmol $g^{-1}min^{-1}$ bedeutet die angegebene Rate bereits eine Steigerung um den Faktor 2,5. Die Steigerung liegt damit deutlich höher als bei einmaliger Grabtätigkeit, die zur Herstellung einer Atemhöhle führt. Hier wurde ein Wert von 6,8 nmol $g^{-1}min^{-1}$ ermittelt.

Die Veränderungen im Stoffwechsel, verbunden mit der Abnahme des O_2-Gehaltes im Coelom weisen eindeutig auf einen mit dem

Niedrigwasser einsetzenden O_2-Mangel hin. Toulmond (1973) fand bei *Arenicola marina* mit beginnendem Niedrigwasser ebenfalls eine Abnahme des O_2-Gehaltes im Blut. Die stärkere Octopinsynthese und die rasche Anhäufung von Acetat und Propionat sind Zeichen einer höheren Stoffwechselrate als zu Beginn einer Anaerobiose im Wasser. Auffällig ist, daß kleine Tiere dabei längere Zeit von ihrem O_2-Vorrat im Coelom profitieren als große Tiere. Wahrscheinlich können sie aufgrund des günstigeren Verhältnisses von Körperoberfläche zu Körpervolumen den O_2-Gehalt des in der Atemhöhle und im Sand verbliebenen Restwassers besser ausnutzen.

Die weitere Entwicklung der Konzentrationen von Succinat, Acetat, Propionat und Octopin im Gewebe deutet an, daß die Tiere auch nach dem Verbrauch des gespeicherten Sauerstoffes noch Zugang zu Sauerstoff haben. Die Konzentrationen von Propionat und Acetat nehmen fast ebenso schnell wieder ab, wie sie angestiegen sind, wahrscheinlich ohne ausgeschieden zu werden (kein Konzentrationsanstieg im Coelom). Der Octopingehalt nimmt ebenfalls wieder ab. Während der folgenden Stunden des Niedrigwassers bleiben sämtliche Metabolite im Gewebe mehr oder weniger konstant auf einem zum Teil erhöhten Konzentrationsniveau, d.h., eine anaerobe Glykogenolyse findet wahrscheinlich nicht mehr statt. Einer Konzentrationsabnahme im Coelom zufolge wird Acetat sogar weiter metabolisiert. Dies erinnert zunächst an die für Acetat vermutete Metabolisierung im Rahmen einer anaeroben Lipidbiosynthese (s. 4.1.1.a, S. 206), kann jedoch bei offensichtlich vorhandenem Sauerstoff auch bedeuten, daß Acetat aerob metabolisiert wird.

Da der P_{O_2} im Coelom nahe 0 Torr bleibt, erscheint es unwahrscheinlich, daß die Tiere bei fortdauerndem Niedrigwasser, verglichen mit der Anfangsphase, vermehrt Sauerstoff aus der Umgebung aufnehmen. Die Abnahme der Metabolitkonzentrationen läßt daher bei gleichbleibender O_2-Versorgung auf eine so starke Reduktion des Energiebedarfs schließen, daß sogar angehäufte anaerobe Endprodukte wieder aerob umgesetzt werden. Aktivitätsaufzeichnungen weisen eine kontinuierliche Atemperi-

staltik bei Niedrigwasser nach, so daß eine aktive Anreicherung des restlichen Wassers in der Atemhöhle mit Sauerstoff denkbar erscheint. Dies erinnert an das von Wells (1949) für *Arenicola marina* beschriebene Verhalten.

In diesem Zusammenhang muß betont werden, daß es sich um ein Simulationsexperiment handelt, dessen Bedingungen vor allem bezüglich der O_2-Versorgung wahrscheinlich so nicht auf die Verhältnisse im Biotop übertragbar sind. Ein wichtiger Unterschied besteht schon darin, daß der verwandte Sand, obwohl er aus Morgat stammt, durch die experimentelle Handhabung offensichtlich weniger O_2-zehrende Bestandteile enthielt. Im Biotop halten sich die Tiere eigenen Beobachtungen zufolge in der Regel in der dicht unter der Oberfläche beginnenden Reduktionszone auf. Schöttler (1982) und Surholt (in Vorb.) fanden bei Niedrigwasser im Gewebe von *Nereis diversicolor* (im Sommer) bzw. *Arenicola marina* eine anhaltende Succinatbildung. Pionetti und Toulmond (1980) beschrieben für *Arenicola* eine anhaltende Anhäufung von Acetat und Propionat im Blut. Um also die Bedeutung und das wirkliche Ausmaß der anaeroben Energiegewinnung bei *Sipunculus nudus* abschätzen zu können, sind Untersuchungen im Biotop der Tiere unabdingbar.

Der hohe Energiebedarf bei einsetzendem Niedrigwasser äußert sich auch in einem Abbau der energiereichen Phosphate. Erstmals konnte für *Sipunculus nudus* eine deutliche Beanspruchung des Energieinhaltes und sogar ein Abbau des Gesamtadenylatgehaltes um ca. 70 % gefunden werden. Der Energieinhalt sank vorübergehend auf einen Wert von durchschnittlich 0,79, um anschließend wieder bis auf nahe 0,90 anzusteigen, ohne daß gleichzeitig eine Zunahme des Adenylatgehaltes erfolgte. Die Stützung des Energieinhaltes trotz starker Nettoabnahme des ATP weist auf eine wesentliche Bedeutung der Adenylatkinase im Energiehaushalt hin. Die Tätigkeit der Adenylatkinase wird durch die AMP-Desaminase unterstützt, deren ebenfalls große Bedeutung sich bei *Sipunculus nudus* im Abbau des Adenylatgehaltes zeigt. Ein so drastischer Abbau ist im Vergleich mit anderen Anaerobiern als ungewöhnlich zu bezeichnen. Er zeigt mit Blick auf die grundsätzlichen Erörterungen zur biotop- und

funktionsbedingten Anaerobiose (s. Kap.4.1.1., 2.) noch einmal, daß der Aufrechterhaltung des Energieinhaltes eine große Bedeutung zukommt. Wird das Verhältnis zwischen den Konzentrationen der Adenylate aufrechterhalten, so garantiert dies die optimale energetische Ausnutzung des Umsatzes von ATP und trägt dazu bei, die physische Reaktionsfähigkeit der Muskulatur und offensichtlich besonders des Hautmuskelschlauches von *Sipunculus nudus* aufrechtzuerhalten. Die starke Beanspruchung des Energiehaushaltes könnte regulatorische Ursache dafür sein, daß die Glykogenolyserate bei Niedrigwasser stärker ansteigt als bei einmaliger Grabtätigkeit im Sediment (s.o.).

Anhand der vorliegenden Ergebnisse konnte eindeutig demonstriert werden, daß der O_2-Vorrat im Coelom in den ersten Stunden des Niedrigwassers von Bedeutung ist, also in einer Zeit, in der aufgrund hohen Energiebedarfes der anaerobe Energiestoffwechsel und die energiereichen Phosphate in einem bisher nicht gekannten Ausmaß beansprucht werden. Auf eine quantitative Analyse des ATP-Umsatzes muß verzichtet werden, solange das Ausmaß der Aufnahme exogenen Sauerstoffes nicht bekannt ist. Dieses Ausmaß kann bei kleineren Tieren erheblich sein, da sie längere Zeit benötigen als große Tiere, ihren O_2-Vorrat aus dem Coelom zu verbrauchen. Der Sauerstoffverbrauch ist so groß, daß er dem Verhalten der untersuchten Metabolitkonzentrationen zufolge ausreicht, den Energiebedarf nach einer Anpassungsphase vollkommen zu decken.

Der Energiebedarf der Tiere ist bei Anaerobiose im Sediment jedoch zunächst offensichtlich höher als bei Anaerobiose im freien Wasser. Ursache hierfür könnte sein, daß die Tiere im Verlauf des Niedrigwassers aufgrund noch vorhandenen Sauerstoffes eine kontinuierliche Atemaktivität aufrecht erhalten, während extrem niedrige O_2-Werte bei Anaerobiose in freiem Wasser zu Pausen zwischen unregelmäßigen Phasen der Atemaktivität führen. Die Nutzung des anaeroben Stoffwechsels stellt bei simuliertem Niedrigwasser offensichtlich ebenso eine Übergangsanpassung an die Zeit hohen Energiebedarfes dar wie die Nutzung des Phosphagens und des Sauerstoffvorrates im Coelom.

Die Abnahme der Konzentrationen von Octopin, Acetat und Propionat bei fortgesetztem Niedrigwasser zeigt, daß bei partieller Anaerobiose im Sediment schließlich eine Reduktion des Energieumsatzes erfolgt. Im Biotop befinden sich die Tiere bei Niedrigwasser in einem vollkommen anaeroben Sediment, eine Tatsache, die das Ausmaß des zu ertragenden Sauerstoffmangels im Vergleich zum simulierenden Experiment sicherlich noch erhöht. Die Intensität der energetischen Beanspruchung in der ersten Phase des Niedrigwassers könnte daher im Biotop noch übertroffen werden.

Da im Rahmen dieser Untersuchungen in erster Linie die Existenz und das Ausmaß eines anaeroben Stoffwechsels bei (simuliertem) Niedrigwasser interessierten, wurde die Analyse der Stoffwechselregulation und -wege für diese Situation außer Betracht gelassen. Interessant erscheint jedoch die Herkunft des so intensiv gebildeten Propionates und Acetates. Die Bildung dieser beiden Metabolite übersteigt zusammen mit der Succinatbildung in den ersten 3 h bereits den für eine Anaerobiose im freien Wasser beschriebenen Umsatz von Aspartat um 50 %. Diese Diskrepanz wird sicherlich durch angehäuftes Malat noch erhöht. Die Umschaltung auf die Carboxylierungsreaktion muß demnach bereits in den ersten 2-3 h des Niedrigwassers erfolgen, also in weniger als der Hälfte der Zeit, die bei Anaerobiose im freien Wasser für die Umschaltung benötigt wird. Ursache hierfür ist sicherlich der erhöhte Energiebedarf in den ersten Stunden des Niedrigwassers. Interessant ist die Frage nach den regulatorischen Signalen, die die schnelle Umschaltung ermöglichen. Inwieweit eine Akkumulation von CO_2 und eine frühzeitige Abnahme des pH die Umschaltung begünstigen, wird unter Kap. 4.3.4., S. 368f., diskutiert.

Der Situation des Niedrigwassers, in der das Wasservolumen, das den Tieren im Sand zur Verfügung steht, stark reduziert ist, wurde experimentell eine Situation gegenübergestellt, in der sich die Tiere im Sand befinden und nur an extrem hypoxes Atemwasser gelangen können. Das Verhalten der physiologischen Parameter läßt den Schluß zu, daß diese Situation einer An-

aerobiose der Tiere im freien Wasser vergleichbar ist. Der pH_e fällt erst nach 12 h deutlich ab und nicht bereits in der ersten Stunde wie bei Niedrigwasser. Der P_{CO_2} steigt nicht an, sondern fällt wie bei Anaerobiose im freien Wasser leicht ab. Allein der höhere Ausgangswert des P_{CO_2} in der Coelomflüssigkeit und der Ruhe-P_{O_2} im Coelom deuten auf einen erschwerten Gasaustausch im Sand und damit auf einen Unterschied zu Tieren, die sich im Wasser befinden, hin. Der Stoffwechsel wurde anhand der Konzentrationsänderungen von Succinat, Propionat und Acetat im Coelom verfolgt. Nach 24 h wurden die entsprechenden Konzentrationen im Hautmuskelschlauch bestimmt. Im Vergleich zur Anaerobiose im Wasser zeigten sich bei Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes quantitative Unterschiede bei den flüchtigen Fettsäuren Acetat und Propionat, die entweder von Tieren, die im Sand liegen, in geringerem Ausmaß abgegeben werden können als von Tieren, die sich in freiem Wasser befinden, oder aber von im Sand befindlichen Tieren aufgrund eines höheren Energiebedarfes in stärkerem Ausmaß akkumuliert werden. Während der ersten Stunden der Anaerobiose zeigten die Konzentrationsänderungen von Propionat und besonders von Acetat in der Coelomflüssigkeit von zwei Tieren ein Verhalten, das an das des Stoffwechsels in den ersten Stunden des Niedrigwassers erinnert, obwohl die Konzentrationsschwankungen dort im Hautmuskelschlauch auftraten. Ein höherer CO_2-Gehalt verbunden mit einer vielleicht stärkeren energetischen Beanspruchung der Tiere im Sand scheint die einzig-mögliche Erklärung für dieses Phänomen zu sein (s. S. 369).

Die Untersuchungen einer biotopbedingten Anaerobiose im Sediment zeigen, daß eine Analyse des Stoffwechsels bei Anaerobiose im Wasser die Bedingungen im Biotop der Tiere nicht genügend berücksichtigt. Dies gilt besonders für die zunehmende interne Hyperkapnie, die bei den Tieren eine Acidose bewirkt und Einfluß auf den Stoffwechsel nehmen könnte (s. S. 355f). Zukünftige Untersuchungen zum Anaerobiosestoffwechsel sollten in einem geringen Wasservolumen und bei erhöhtem CO_2-Partialdruck durchgeführt werden, um den Bedingungen einer Hypoxie durch Niedrigwasser möglichst nahe zu kommen. Diese Bedingungen gel-

ten auch für die Situation verschütteter Tiere, deren befreiende Grabtätigkeit so lange durch den O_2-Vorrat und einen anaeroben Stoffwechsel ermöglicht wird, bis sie wieder Zugang zum überstehenden Wasser haben. Der Konzentrationsanstieg von Acetat, Propionat und Succinat in der Coelomflüssigkeit zeigt, daß neben der Octopingärung die Succinatgärung bei langfristiger anaerober Grabtätigkeit von Bedeutung ist. Dies stützt die bereits geäußerte Vermutung, daß die Succinatgärung neben einer effektiven ATP-Bildung, die besonders bei biotopbedingter Anaerobiose wichtig ist, auch die Aufgabe hat, die Funktions- und Lebensfähigkeit der Mitochondrien für die Zeit des Sauerstoffmangels aufrechtzuerhalten.

Der Aspekt der Erholung von einer biotopbedingten Anaerobiose im Sediment wurde nicht in die vorliegenden Untersuchungen einbezogen. Die Überprüfung der Erholungsfähigkeit nach Anaerobiose im freien Wasser ergab jedoch, daß *Sipunculus nudus* nach langfristiger Anaerobiose eine längerfristige Erholungsphase benötigt. Metabolitkonzentrationen in der Coelomflüssigkeit kehren wie der P_{O_2} in einem Zeitraum von 12 h in die Nähe der aeroben Ausgangswerte zurück. Untersuchungen der energiereichen Phosphate und der Metabolitkonzentrationen im Gewebe stehen jedoch noch aus. Unter der Voraussetzung, daß während der Erholung keine Abgabe an das Wasser erfolgt, scheint der Abbau von Propionat in engem zeitlichen Zusammenhang zum Abbau von Succinat zu stehen. Die Succinatkonzentration sinkt erst, nachdem bereits die Hälfte des Propionates metabolisiert ist. Es ist naheliegend, einen Abbau des Propionates über Succinat anzunehmen.

Die Veränderungen der Parameter des Säure-Basen-Haushaltes (s. Abb. 67, S. 174) zeigen ebenfalls an, daß die Erholung von biotopbedingter Anaerobiose bei *Sipunculus nudus* längere Zeit beansprucht als z.B. bei *Arenicola marina* (Pörtner et al., 1979; Toulmond, 1973). Im Hinblick auf die Lebensweise wird dies durch die Tatsache verständlich, daß *Sipunculus nudus* nicht wie *Arenicola* ein typischer Bewohner der Gezeitenzone ist, der sich dem ständigen Wechsel zwischen Ebbe und Flut angepaßt hat, sondern daß die Art die Gezeitenzone nur an der Grenze ihres Verbreitungsgebietes besiedelt, und zwar in der Regel dort, wo sie nur einmal im Monat tatsächlich längeren Zeiten des Niedrigwassers ausgesetzt ist.

4.3. Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt unter wechselnden Bedingungen der O_2-Versorgung und bei Aktivität

Der anaerobe Energiestoffwechsel ist nach verbreiteter Vorstellung mit einer Beeinflussung des Säure-Basen-Haushaltes verbunden. Ein wichtiges Argument, das in den Augen vieler Autoren für die Selektion der Succinatgärung bei biotopbedingter Anaerobiose spricht, ist die Möglichkeit, Acetat und Propionat als saure Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels in das Medium auszuscheiden und so das Ausmaß der anaerobiosebedingten Acidose gering zu halten (s. z.B. Zebe et al., 1980). Die Bedeutung dieses Argumentes muß für *Sipunculus nudus* nach den bisherigen Erörterungen allerdings deshalb eingeschränkt werden, weil die Tiere bei Anaerobiose im Sand mehr Acetat und Propionat im Hautmuskelschlauch und im Coelom anhäufen als bei Anaerobiose im Wasser (s. Abb. 55, S. 153, im Vergleich zu Abb. 56, S. 157). Es ist vorstellbar, daß Tiere, die sich im Sand befinden, gar nicht in dem Maße Fettsäuren an das Wasser abgeben können wie Tiere, die sich im Wasser befinden. Außerdem tritt bei simuliertem Niedrigwasser trotz vorübergehend hoher Akkumulation von Acetat und Propionat im Gewebe keine Abgabe der Metabolite vom Hautmuskelschlauch an die Coelomflüssigkeit auf. Wenn Acetat und Propionat das Gewebe passiv verlassen, ist anzunehmen, daß bei Niedrigwasser auch keine Fettsäuren an das interstitielle Wasser des Sandes abgegeben werden, zumal bei Anaerobiose im freien Wasser im Coelomplasma höhere Konzentrationen der Fettsäuren erreicht werden als im Inkubationswasser und daher die Abgabe an das Coelomplasma offensichtlich leichter ist.

Die Produktion saurer Metabolite wirft die Frage nach ihrer quantitativen Auswirkung auf den Säure-Basen-Haushalt auf, die in diesem Kapitel diskutiert werden soll. Ein wesentlicher Aspekt ist dabei die potentielle Beeinflussung des pH_i durch den Anaerobiosestoffwechsel. In der Einleitung wurden Hypothesen geschildert, die eine wesentliche Funktion des pH_i bei der Regulation des Energiestoffwechsels postulieren. Grundlage dieser Hypothesen ist die Tatsache, daß die Aktivität wesentlicher

Enzyme des anaeroben Energiestoffwechsels pH-abhängig ist. Damit sind die wichtigsten Diskussionspunkte dieses Kapitels umrissen.

4.3.1. Zu den Grundlagen einer quantitativen Analyse der pH-relevanten Veränderungen im Energiestoffwechsel

Die Grundlage der unter 3.8. durchgeführten Analyse der quantitativen Beziehungen zwischen Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt ist die Hypothese, daß acidotische Prozesse auf die Dissoziation angehäufter saurer Metabolite zurückzuführen sein könnten. Diese Anschauung ist bei der Betrachtung acidotischer Vorgänge im Energiestoffwechsel verbreitet. Im Hinblick auf eine quantitative Beziehung zwischen Milchsäurebildung und Ansäuerung im Muskel wurde eine entsprechende Theorie bereits von Claude Bernard (1855) und Dubois-Reymond (1859), zitiert nach Needham (1971), aufgestellt, von Meyerhof und Lohmann (1926) und Lipmann und Meyerhof (1930) in gleicher Form verwandt und erst kürzlich von Wilkie (1979) vehement verteidigt. Grund der Verteidigung durch Wilkie war eine Modifikation der genannten Theorie, die zwar eine quantitative Korrelation zwischen H^+-Produktion und Laktatbildung nicht in Frage stellte, die aber einen anderen Mechanismus der H^+-Freisetzung für wahrscheinlicher hielt. Gevers (1977, 1979), Krebs et al. (1975) und Zilva (1978) postulierten, daß die Freisetzung der Protonen nicht an die direkte Eigendissoziation der Milchsäure gebunden ist, sondern an den simultanen Umsatz des glykolytisch gebildeten ATPs. Diese Überlegungen zeigen schon, daß das Verfahren, welches die Wirksamkeit von angehäuften Metaboliten auf den Säure-Basen-Haushalt in der Weise analysiert, daß die Netto-Konzentrationszunahme verfolgt und das Dissoziationsverhalten der undissoziierten, ungeladenen Moleküle auf die lebende Zelle übertragen wird, überprüft werden muß. In Analogie zu der für die Laktacidose üblichen Vorgehensweise (vergl. Curtin und Woledge, 1978; Wilkie, 1979; Piiper, 1980; Heisler, 1980, 1982) wurde das genannte Verfahren in der vorliegenden Arbeit nämlich z.B. für Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure und Propionsäure angewandt, soweit sie aus dem Glykogen stammen und während einer biotopbedingten Anaerobiose Konzentrations-

zunahmen aufweisen (s. Kap. 2.3.9., S. 47 f.). Bei Konzentrationsabnahmen wurde ein entsprechender Verbrauch von Protonen angenommen. Im folgenden soll daher der Stoffwechselweg sämtlicher Endprodukte verfolgt werden, um aus den Reaktionswegen Aufschluß über den Einfluß zu erhalten, den eine Bildung der verschiedenen Substanzen aus den jeweiligen Substraten auf den Säure-Basen-Haushalt hat. Auf diese Weise soll überprüft werden, ob die geschilderte Vorgehensweise für die Ermittlung der Protonenbilanz des Energiestoffwechsels korrekt ist.

Die Reaktionswege werden unter der vereinfachten Voraussetzunng betrachtet, daß die Redoxbalance ausgewogen ist, d.h., es wird angenommen, daß eine Nettobildung von NADH + H^+ keinen wesentlichen Einfluß auf den Säure-Basen-Haushalt hat. Eine weitere Voraussetzung für sämtliche Überlegungen ist, daß ATP und ADP in der Zelle als Magnesiumkomplexe vorliegen. Die Komplexbildung mit Magnesium beeinflußt nämlich das Dissoziationsverhalten von ATP und ADP. Hoult et al. (1974) und Dawson et al. (1977) konnten im Rahmen von $^{31}P_{NMR}$-Untersuchungen experimentell nachweisen, daß der weitaus größte Teil des intrazellulär vorliegenden ATPs mit Magnesium komplexiert ist. Dies wurde von Barrow et al. (1980) auch für einen marinen Invertebraten bestätigt. Über den Bindungszustand des ADP liegen keine experimentellen Daten vor, da die Konzentration (als freies ADP) im lebenden Muskel sehr gering ist (Barrow et al., 1980). Die Bindungskonstante des ADP^{3-} für Mg^{2+} zeigt jedoch mit log K° = 4,28 wie die des ATP^{4-} (log K° = 5,83) ein Gleichgewicht auf Seiten des Magnesiumkomplexes an (Phillips et al., 1966, 1969), so daß im folgenden auch von einer Komplexierung des ADP ausgegangen wird (vergl. auch Curtin und Woledge, 1978; Burton, 1980). Die Dissoziationskonstanten der Mg-Komplexe des ATP^{3-} und ADP^{2-} liegen mit pK_S° = 5,44 bzw. pK_S° = 5,38 (Phillips et al., 1966; pK_S' = 5,0 bzw. 5,1, Smith und Alberty, 1956) so niedrig, daß die beiden Komplexe bei pH_i = 7,3 als $MgATP^{2-}$ bzw. $MgADP^-$ vorliegen. Die Säure-Basen-Eigenschaften des anorganischen Phosphates werden anscheinend in Gegenwart von Mg^{2+} nicht verändert (Burt et al., 1976, 1979; s. jedoch Phillips et al., 1969). Dies trifft wohl auf jeden Fall für den Bereich physiologischer Mg-Konzentrationen zu, in dem nur relativ wenig Mg an anorganisches Phosphat

(als $MgHPO_4$, Smith und Alberty, 1956) gebunden ist (s. Veloso et al., 1973; Curtin und Woledge, 1978). Die Dissoziationskonstante frei vorliegenden anorganischen Phosphates hat in der Zelle einen Wert von $10^{-6,81}$ (Netter, 1959; Barrow et al., 1980).

Bei pH_i = 7,32 (aerober Ruhewert im Hautmuskelschlauch) liegt das freie anorganische Phosphat in der Zelle zu 76 % als HPO_4^{2-} und zu 24 % als $H_2PO_4^-$ vor. Tritt in der Zelle ein Nettoabbau von ATP auf, so gilt:

(1) $MgATP^{2-} + H_2O \longrightarrow MgADP^{1-} + 0,76\ P_i^{2-} + 0,24\ P_i^- + 0,76\ H^+$

schem.: $R\text{-}(OPO_2^-)_2OPO_3^{2-} + H_2O \longrightarrow R\text{-}OPO_2^-OPO_3^{2-} + HPO_4^{2-} + H^+$

Für die Analyse der Auswirkungen des Energiestoffwechsels auf den Säure-Basen-Haushalt ist den jeweils dominierenden Stoffwechselwegen entsprechend nach funktionsbedingter und biotopbedingter Anaerobiose zu unterscheiden. In beiden Situationen findet jedoch eine Hydrolyse des Phospho-L-Arginins statt. Seit den intensiven Untersuchungen von Meyerhof und Lohmann (1928) über die chemischen Eigenschaften der Kreatinphosphorsäure und der Argininphosphorsäure ist bekannt, daß mit der Hydrolyse dieser Substanzen ein pH-abhängiger Verbrauch von Protonen verbunden ist. Bei einem pH_i von 7,32 läßt sich ein Protonenverbrauch in Höhe von 0,24 mol H^+/mol Phosphagen berechnen:

(2) $R\text{-}PO_3^{2-} + H_2O + 0,24\ H^+ \longrightarrow R\text{-}H + 0,24\ P_i^- + 0,76\ P_i^{2-}$

Aus der Gleichung (2) wird deutlich, daß der Rest R von der Reaktion nur insoweit betroffen ist, als der Phosphatrest durch Wasserstoff ersetzt wird. Vergleicht man die pK_s-Werte des Phospho-L-Arginins und des L-Arginins in Tab. 2, S. 48, so fällt auf, daß mit der Freisetzung des Phosphates - pK_s = 4,5 des Phosphatrestes am Phospho-L-Arginin entfällt - keine pH-relevante Verschiebung der anderen pK-Werte des L-Arginins erfolgt. Da sich das L-Arginin im Phospho-L-Arginin vor der Abspaltung des Phosphatrestes im Dissoziationsgleichgewicht mit dem Zellwasser befindet, muß die Überlegung Hochachkas (1980) als unrichtig zurückgewiesen werden, daß bei Spaltung des Phospho-L-Arginins eine Störung des Zell-pH durch die basische Aminosäure L-Arginin hervorgerufen werde.

(a) funktionsbedingte Anaerobiose

Der Abbau des Phospho-L-Arginins steht bei *Sipunculus nudus* in Beziehung zur Bildung von Octopin, das in erster Linie bei Aktivität akkumuliert wird. Zammit (1978) analysierte die Acidität des Octopins und fand, daß Octopin, als freie „Säure" bzw. „Base" in Lösung gebracht, durch die Existenz zweier saurer und zweier basischer Gruppen nur eine geringe Menge an Protonen freisetzt. Bei pH_i = 7,32 würden dann nur 3,5 % des insgesamt vorliegenden Octopins eine Ansäuerung verursachen. Die Ausgangssituation im Energiestoffwechsel erlaubt jedoch eine solche Betrachtung nicht. Der L-Argininrest des Phospho-L-Arginins befindet sich vor und nach der Abspaltung des Phosphatrestes im Dissoziationsgleichgewicht mit dem Zellwasser (s.o.). Die pK_s-Werte des L-Arginins lassen sich folgendermaßen zuordnen:

Carboxylgruppe	1,85	
α-Aminogruppe	9,27	
Guanidinogruppe	12,48	(einbasig, mesomeristabilisiert, vergl. dagegen Zammit, 1978)

Bei der Octopinbildung kommt die Carboxylgruppe des Pyruvats hinzu. Sie besitzt einen pK_s-Wert von 2,4. Die pK_s-Werte des L-Arginins werden bei der Octopinbildung nicht pH-relevant verändert:

Carboxylgruppe	1,36	
Iminogruppe	8,76	(vorher α-Aminogruppe)
Guanidinogruppe	11,3	

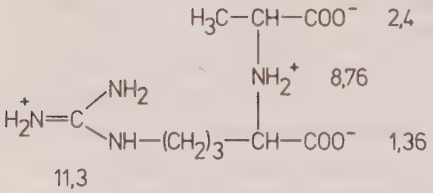


Abb. 88: Dissoziationszustand des Octopins im physiologischen pH-Bereich. Die Zahlen geben die Säurekonstanten der funktionellen Gruppen an.

Abb. 88 zeigt den Dissoziationszustand des Octopins im physiologischen pH-Bereich (vergl. dagegen Zammit, 1978).

Aus dem Gesagten folgt, daß der einzige pH-relevante Netto-Vorgang bei der Octopinbildung die Anlieferung des Pyruvates aus der Glykolyse ist. Die Frage ist nun, wie und wo in der anaeroben Glykolyse die Freisetzung der Protonen erfolgt. Die dafür entscheidende Reaktion ist die Bildung der sauren Carboxylgruppe bei der Oxidation des Phosphoglycerinaldehyds. Auf der Basis der bisherigen Überlegungen lassen sich die zugehörigen Teilreaktionen der anaeroben Glykolyse wie folgt formulieren:

(3) $2\ \text{Triose-P}^{2-} + 2\ \text{NAD}^{+} + 2\ \text{P}_i^{2-} \longrightarrow 2\ 1,3\text{-P}_2\text{-Glycerat}^{4-} + 2\ \text{NADH} + 2\,\text{H}^{+}$

(4) $2\ 1,3\text{-P}_2\text{-Glycerat}^{4-} + 2\ \text{MgADP}^{-} \longrightarrow 2\ 3\text{-P-Glycerat}^{3-} + 2\ \text{MgATP}^{2-}$

Gleichung (4) zufolge wird die Carboxylgruppe in der dissoziierten Form gebildet, dh., sie liefert das für die Bildung des Mg-ATP^{2-} erforderliche H^{+} (Umkehr von Gleichung (1), S. 327). Die Summengleichung der anaeroben Glykogenolyse lautet demzufolge für *Sipunculus nudus* bei $\text{pH}_i = 7{,}32$:

(5) $\text{Glucose}_n + 2{,}28\ \text{P}_i^{2-} + 0{,}72\ \text{P}_i^{-} + 2\ \text{L-Arg}^{+} + 3\ \text{MgADP}^{-} + 0{,}28\ \text{H}^{+}$

$\longrightarrow \text{Glucose}_{n-1} + 2\ \text{Octopin} + 3\ \text{MgATP}^{2-}$

Unter diesen Umständen läßt sich die Auffassung von Krebs et al. (1975) bestätigen, daß die anaerobe Glykolyse erst dadurch zu einer Nettoproduktion von Protonen führt, daß das gebildete MgATP^{2-} simultan umgesetzt wird. Diese Voraussetzung ist *in vivo* erfüllt, so daß es müßig ist, für die Glykolyse zwischen einer H^{+}-Freisetzung durch Eigendissoziation und einer Freisetzung von H^{+} über ATP zu unterscheiden. Ein wichtiges Ergebnis dieser Überlegungen ist jedoch, daß die Octopinbildung mit einer Nettoproduktion von H^{+} in Höhe von 1 mol H^{+}/mol Octopin verbunden ist. Diese Feststellung gilt nicht nur für Octopin, sondern auch für alle anderen Opine, die als Endprodukte der Glykolyse gebildet werden. Das Proton stammt aus der Oxidation des Phosphoglycerinaldehyds zur Phosphoglycerinsäure. Damit sind die Schlußfolgerungen von Zammit (1978) für den Aktivitätsstoffwechsel und den Säure-Basen-Haushalt octopinbildender Tiere noch einmal zu überprüfen. Dies soll für *Sipunculus nudus* unter 4.3.2. geschehen.

(b) biotopbedingte Anaerobiose

Bei biotopbedingter Anaerobiose stimmt die Menge der gebildeten Endprodukte nicht mit der Menge der dabei regenerierten ATP-Moleküle überein, d.h., für diesen Fall ist die Überprüfung der Protonenbilanz im Zusammenhang mit ATP-Umsatz und Endproduktbildung sinnvoll. Ausgehend vom Phosphoenolpyruvat oder Pyruvat (Abb. 85, S. 226) kommen Reaktionen hinzu, die bis zum Succinat, Propionat oder Acetat führen und die ATP-Ausbeute pro Glykosyleinheit erhöhen (Zebe et al., 1980; Zandee et al., 1980). Der Einfachheit halber wird sämtliches an den Reaktionen teilnehmendes Phosphat als P_i^{2-} geschrieben. Dies ist möglich, da der ATP-Spiegel während der Anaerobiose konstant gehalten wird und sämtliches vom ATP freigesetztes P_i auch wieder in die Reaktionen eingeht. Da also keine Nettoänderung der Konzentrationen auftritt, gilt für ATP-Spaltung und Resynthese vereinfacht:

(6) $MgATP^{2-} + H_2O \rightleftharpoons MgADP^- + P_i^{2-} + H^+$

Den verschiedenen Bildungswegen entsprechend läßt sich die Produktion der anaeroben Endprodukte aus den verschiedenen Substraten in Summengleichungen zusammenfassen (vergl. Abb. 85, S. 226, Schema I und II). Wasser und NAD^+ bzw. $NADH + H^+$ werden als Reaktionsteilnehmer nicht berücksichtigt, da ersteres ohne Einfluß auf den Säure-Basen-Haushalt ist und da vereinfachend von einer ausgeglichenen Redoxbalance ausgegangen wird. Für die Carboxylierungsreaktion wird in den Gleichungen Bicarbonat als Reaktionspartner geschrieben, obwohl das CO_2 möglicherweise der aktive Reaktionspartner ist (vergl. Cooper et al., 1968). Auf diese Weise läßt sich in Tab. 30, S. 333, unterscheiden, welche Protonen über das MgATP und welche direkt über die Bildung neuer Carboxylgruppen freigesetzt werden ($\Delta HCO_3^- = -1$). Auf die quantitative Protonenbilanz hat diese Schreibweise keinen Einfluß.

1. Phase: Aspartat und Glykogen als Substrate

- Bildung von Malat und Alanin:

(7) $2\ Aspartat^- + Glucose_n + 3\ P_i^{2-} + 3\ MgADP^- + H^+$

$$\longrightarrow 2\ Malat^{2-} + Glucose_{n-1} + 2\ Alanin + 3\ MgATP^{2-}$$

- Bildung von Succinat:

(8) $2\ Aspartat^{-} + Glucose_n + 5\ P_i^{2-} + 5\ MgADP^{-} + 3\ H^{+}$

$$\longrightarrow 2\ Succinat^{2-} + Glucose_{n-1} + 2\ Alanin + 5\ MgATP^{2-}$$

- Bildung von Propionat:

(9) $2\ Aspartat^{-} + Glucose_n + 7\ P_i^{2-} + 7\ MgADP^{-} + 5\ H^{+}$

$$\longrightarrow 2\ Propionat^{-} + Glucose_{n-1} + 2\ Alanin + 7\ MgATP^{2-} + 2\ HCO_3^{-}$$

- Bildung von Propionat aus Aspartat und Glykogen über den Citratcyclus:

(10) $Glucose_n + 2\ Aspartat^{-} + 10\ P_i^{2-} + 10\ MgADP^{-} + 2\ H^{+}$

$$\longrightarrow Glucose_{n-2} + 2\ Propionat^{-} + 2\ Alanin + 10\ MgATP^{2-} + 8\ HCO_3^{-}$$

- Bildung von Acetat:

(11) $2\ Aspartat^{-} + Glucose_n + 5\ P_i^{2-} + 5\ MgADP^{-} + H^{+}$

$$\longrightarrow 2\ Acetat^{-} + Glucose_{n-1} + 2\ Alanin + 5\ MgATP^{2-} + 4\ HCO_3^{-}$$

oder:

(12) $Glucose_n + 5\ P_i^{2-} + 5\ MgADP^{-} + H^{+}$

$$\longrightarrow Glucose_{n-1} + 2\ Acetat^{-} + 5\ MgATP^{2-} + 2\ HCO_3^{-}$$

- Bildung von Octopin:

s.o. Gl. (5)

2. Phase: Glykogen als Substrat

- Bildung von Malat:

(13) $Glucose_n + 3\ P_i^{2-} + 3\ MgADP^{-} + H^{+} + 2\ HCO_3^{-}$

$$\longrightarrow Glucose_{n-1} + 2\ Malat^{2-} + 3\ MgATP^{2-}$$

- Bildung von Succinat über die Fumaratreduktase:

(14) $Glucose_n + 5\ P_i^{2-} + 2\ HCO_3^{-} + 5\ MgADP^{-} + 3\ H^{+}$

$$\longrightarrow Glucose_{n-1} + 2\ Succinat^{2-} + 5\ MgATP^{2-}$$

- Bildung von Propionat über die Fumaratreduktase:

(15) $Glucose_n + 7\ P_i^{2-} + 7\ MgADP^{-} + 5\ H^{+}$

$$\longrightarrow Glucose_{n-1} + 2\ Propionat^{-} + 7\ MgATP^{2-}$$

- Bildung von Propionat über den Citratcyclus:

(16) $Glucose_n + 10\ P_i^{2-} + 10\ MgADP^- + 2\ H^+ \longrightarrow Glucose_{n-2} + 2\ Propionat^- + 10\ MgATP^{2-} + 6\ HCO_3^-$

- Bildung von Acetat:

(17) $Glucose_n + 5\ P_i^{2-} + 5\ MgADP^- + H^+ \longrightarrow Glucose_{n-1} + 2\ Acetat^- + 5\ MgATP^{2-} + 2\ HCO_3^-$

Die bisher aufgeführten Reaktionsgleichungen werden dem anaeroben Glykogenstoffwechsel bei biotopbedingter Anaerobiose innerhalb der üblichen Betrachtungsweise gerecht (s. Zebe et al., 1980). Problematisch ist die Berücksichtigung eines anaeroben Lipidstoffwechsels, der den Erörterungen von 4.1.1. (S. 225ff.) zufolge schon aus Gründen der Redoxbalance in die Überlegungen einzubeziehen ist. Nimmt man im einfachsten Fall eine Reduktion ungesättigter Fettsäuren an, so treten dabei keine pH-relevanten Veränderungen auf.

Betrachtet man die Summengleichungen des biotopbedingten Anaerobiosestoffwechsels, so stellt sich heraus, daß Carboxylierung und Decarboxylierung die Protonenbilanz des ATP-Umsatzes beeinflussen. In der folgenden Tabelle sind die Protonen- und Bicarbonatmengen angegeben, die mit der Produktion der verschiedenen Metabolite je nach Substrat und Bildungsweg freigesetzt oder verbraucht werden. Die Protonenmenge wurde zunächst aus dem ATP-Umsatz berechnet. In der Protonenbilanz des Energiestoffwechsels wird allerdings ein Mol Protonen durch ein Mol Bicarbonat als dementsprechende Menge von Basenäquivalenten aufgewogen. Die Bildung und die Abgabe von CO_2 können also als respiratorische Kompensation einer metabolisch bedingten Acidose verstanden werden.

Betrachtet man nun die quantitative Beziehung zwischen der Freisetzung von Protonen aus gebildetem $MgATP^{2-}$ und der Anhäufung von Metaboliten und bezieht dabei die Bildung oder Aufnahme von Bicarbonat in die Betrachtungen ein, so ergibt sich folgendes Bild:
Die Anlieferung von Malat, Succinat, Propionat und Acetat aus Glykogen ist mit einer Freisetzung von Protonen verbunden,

Tab. 30: Stöchiometrische Nettoproduktion von Protonen bei der Umsetzung von Aspartat (Asp.), Glykogen (Glyk.) in funktionsbedingter und biotopbedingter Anaerobiose.

Metabolit	Substrat	stöchiom. ATP-Umsatz	ΔH^+_{ATP}	ΔHCO_3^-	ΔH^+_{tot}
Octopin	Glykogen	1,5	+ 1	—	+ 1
Alanin	Glykogen	1,5	+ 1	—	+ 1
Malat	Aspartat	0	0	—	—
	Glykogen	1,5	+ 1	- 1	+ 2
Succinat	Aspartat	1	0	—	—
	Glykogen	2,5	+ 1	- 1	+ 2
Propionat	Aspartat	2	0	+ 1	- 1
	Glykogen	3,5	+ 1	—	+ 1
	Glyk. + Asp., Citratcyclus	3,5	+ 3	+ 4	- 1
	Glykogen, Citratcyclus	5	+ 4	+ 3	+ 1
Acetat	Aspartat	1	+ 1	+ 2	- 1
	Glykogen	2,5	+ 2	+ 1	+ 1

die der Eigendissoziation der Metabolite stöchiometrisch ist. Die Anlieferung aus Aspartat führt für Malat und Succinat zu keiner Produktion von Protonen ($\Delta H^+ = 0$). Sie ist für Acetat und Propionat sogar mit einer stöchiometrischen Aufnahme von Protonen verbunden ($\Delta H^+ = -1$, S. Tab. 30). Die Alaninbildung führt zu einer stöchiometrischen H^+-Produktion ($\Delta H^+ = + 1$). Damit ist die Grundlage der quantitativen Bilanz nach Kap. 2.3.9. bestätigt. Als Resultat der Überlegungen ist hervorzuheben, daß eine Umsetzung von Aspartat, die ja nach gängiger Auffassung in den ersten Stunden der Anaerobiose die ersten sauren Metabolite anliefern und damit die Absenkung des angeblich regulatorisch wichtigen pH_i bewirken soll, gar keine

Acidose bewirken kann. Sie führt im Gegenteil bei der Bildung von Acetat und Propionat zu einer Alkalose, da hierbei eine Nettoproduktion von Bicarbonat und damit von Basenäquivalenten erfolgt. Nur die mit dem Aspartatumsatz gekoppelte Alaninbildung führt zu einer Freisetzung von Protonen.

Die aufgestellten Reaktionsgleichungen von (6) bis (17) geben auch Auskunft über die Produktion von CO_2, die mit der Akkumulation der Anaerobioseprodukte verbunden ist. Nimmt man einen respiratorischen Quotienten von 1 an, so ergibt sich aus einem O_2-Verbrauch des Gewebes von 27,1 nmol O_2 $g^{-1}min^{-1}$ unter Normoxie eine ebenso hohe CO_2-Produktion. Die CO_2-Produktion bei Anaerobiose ergibt sich aus den Konzentrationsänderungen der Metabolite entsprechend Tab. 9, S. 78). Für die Zeit von 0-2 h ist der O_2-Verbrauch des Gewebes aus dem Coelom in Höhe von 307 nmol $g^{-1}h^{-1}$ in die Überlegungen einzubeziehen. Für diese Zeit wurde für den Teil des Succinats und Propionats, der nicht aus dem Umsatz von Aspartat erklärt werden kann, eine CO_2-Bilanz nach Gleichung (13), (14) und (15) angenommen, da andere Bildungsmöglichkeiten bisher nicht nachgewiesen sind (vergl. 4.1.1.b, S. 223). Für alle Zeiträume wurde nach Zebe et al. (1980) postuliert, daß die Redoxbalance für die Produktion von Succinat und Propionat durch die Bildung von Propionat über den Citratcyclus ausgeglichen wird (s. Tab. 25, S. 227, und Abb. 85, S. 226). Für die Zeit von 2-6 h wurde angenommen, daß die Acetatbildung den Teil der C-Ketten ausmacht, der nicht aus dem Aspartat erklärbar ist.

Tab. 31: Nettoproduktion von CO_2 im Gewebe (HMS: Hautmuskelschlauch) während 24 h Anaerobiose

CO_2-Produktion	0 - 2 h	2 - 6 h	6 - 12 h	12 - 24 h	Normoxie
ΔCO_2 (µmol/g HMS)	0,63	1,49	1,96	0,09	
ΔCO_2 (nmol $g^{-1}min^{-1}$)	5,26	6,20	5,44	0,13	27,1

Solange der gesamte Ablauf des Stoffwechsels nicht geklärt ist, muß diese Berechnung eine vorläufige bleiben. Sie zeigt jedoch,

daß die CO_2-Produktion mit einsetzender Anaerobiose stark abnimmt und bei langfristiger Anaerobiose extrem niedrige Werte erreicht. Verursacht wird dies dadurch, daß die Acetatbildung nach 12 h Anaerobiose beendet ist.

4.3.2. Zur Analyse der Parameter des Säure-Basen-Haushaltes

Die methodische Voraussetzung für eine quantitative Analyse der Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt eines Tieres ist die Messung von pH-Änderungen in der Intra- und der Extrazellulärflüssigkeit, die Bestimmung des Pufferwertes in der Körperflüssigkeit und im Gewebe und die isolierte Betrachtung des CO_2/Bicarbonat-Systems, das Respiration und Säure-Basen-Haushalt kausal verbindet. In einem komplexen Organismus ist diese Analyse für alle unterschiedlichen Gewebe und Körperflüssigkeiten durchzuführen. Der einfache Körperbau des *Sipunculus nudus* erlaubt anscheinend die Konstruktion eines einfachen Modelles, mit dessen Hilfe eine Annäherung an die quantitativen Verhältnisse versucht werden kann. Dieses Modell, das auch für die Aufstellung einer Stoffwechselbilanz verwandt wurde, beschränkt sich auf die Betrachtung der Vorgänge im Hautmuskelschlauch und in der Coelomflüssigkeit (s. Kap. 2.3.9., S.45 ff.). Da die Coelomflüssigkeit 52 % des Gesamtgewichtes einnimmt und der Hautmuskelschlauch ca. 80 % des Gewebes darstellt, scheint die Verwendung des Modelles schon aufgrund der Gewichtsverhältnisse gerechtfertigt. Im Verlauf der Untersuchungen stellte sich zudem heraus, daß der pH_i sich in den Retraktoren (6,9 % der gesamten Muskulatur) ähnlich wie im Hautmuskelschlauch verhält und daß Retraktoren und Coelomzellen prinzipiell ähnliche Änderungen im Energiestoffwechsel aufweisen wie der Hautmuskelschlauch. Über Nephridien, Nervensystem und Darm können keine Aussagen gemacht werden, so daß es nicht möglich ist, die Richtigkeit des Vorgehens endgültig festzustellen. Allerdings nehmen diese Gewebe nur einen kleinen Anteil des gesamten Körpervolumens ein.

Das genannte Modell erlaubt eine vereinfachte Handhabung der experimentellen Daten, wenn man Pufferkapazität, pH-Änderungen und Konzentrationsänderungen im Hautmuskelschlauch für das ge-

samte Gewebe verallgemeinert und die quantitativen Veränderungen nach dem unter 2.3.9., S. 45ff., geschilderten Verfahren für das Gesamt-Körperwasser berechnet. Die durchgeführte Bilanz (s. Tab. 22, S. 199) sollte zeigen, ob diese vereinfachte Betrachtung eine Beziehung zwischen Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt erkennen läßt.

Die Messung des extrazellulären pH erscheint relativ problemlos, da Körperflüssigkeitsproben anaerob über einen Katheter abgenommen werden konnten, ohne die betroffenen Tiere zu stören. Die Messung des intrazellulären pH ist dagegen problematischer. Im vorliegenden Fall wurde der pH_i mit Hilfe der schwachen Säure DMO bestimmt. Im Vergleich mit anderen Methoden der pH_i-Bestimmung zeigt DMO bei der Verteilung zwischen Intra- und Extrazellulärraum ein nahezu ideales Verhalten, d. h., entsprechend der Theorie ist die Zellmembran nahezu impermeabel für die dissoziierte Form, und die Verteilung wird auch durch andere Faktoren wie z.B. die Bindung an Protein nicht beeinflußt (Waddell und Butler, 1959; Gillies und Deamer, 1979). Die pH_i-Messung mit Hilfe von DMO führt zu pH_i-Werten, die nur geringfügig unter denen liegen, die mit der pH-Elektrode erhalten werden (Boron und Roos, 1976). Nach Hinke und Menard (1978) sollen sie geringfügig über den Werten liegen, die mit einer Elektrode gemessen werden können, ein Phänomen, das von Boron und Roos (1981) mit einer fehlerhaften Messung des Extrazellulärvolumens erklärt wurde (vergl. Malan et al., 1976). Abweichungen vom idealen Verhalten, wie sie z.B. von Boron und Roos (1976) und Hinke und Menard (1978) diskutiert werden, stören insgesamt die Messungen nur in geringem Ausmaß.

Ein wesentlicher Nachteil der Messungen des pH_i mit Hilfe von DMO liegt darin, daß Veränderungen des pH_i nicht kontinuierlich an einem Tier verfolgt werden können. Zur Bestimmung muß das Tier getötet und die Muskulatur aufgearbeitet werden. Ein weiterer Nachteil liegt darin, daß kurzfristige Änderungen des pH_i nicht faßbar sind, da das Erreichen der Gleichgewichtsverteilung zwischen Intra- und Extrazellulärraum eine bestimmte Zeit benötigt.

Bei Betrachtung der erhaltenen intrazellulären pH-Werte stellt sich die Frage, ob sie eine Aussagekraft für die ursprüngliche Fragestellung haben, d.h., ob sie wirklich den pH-Werten entsprechen, die für die enzymatischen Reaktionen des Stoffwechsels im Cytosol maßgeblich sind (vergl. Einleitung). Diese Frage kann nicht mit letzter Sicherheit beantwortet werden, weil davon ausgegangen werden muß, daß die pH_i-Messung mit DMO als schwacher Säure einen durchschnittlichen Zell-pH ergibt, der bei vorhandener Inhomogenität des pH in der Zelle mehr in der Nähe des höheren pH-Wertes liegt (Waddell und Bates, 1969; Adler, 1972). Eine starke Inhomogenität des pH ist z.B. bei Zellen zu erwarten, die einen hohen Mitochondriengehalt besitzen. Addanki et al. (1968), Ogawa et al. (1978) und Holian und Wilson (1980) konnten mit verschiedenen Methoden einen pH-Gradienten von 0,2 und mehr zwischen (isolierten) Mitochondrien und ihrer Umgebung nachweisen. Da für die Muskulatur von *Sipunculus nudus* ein geringer Mitochondriengehalt diskutiert wurde (s. S. 265) kann wohl davon ausgegangen werden, daß der Meßfehler durch einen höheren pH_i der Mitochondrien vernachlässigt werden kann.

Anhaltspunkte dafür, ob die mit Hilfe von DMO erhaltenen pH-Werte für den Stoffwechsel relevant sind, geben die in den letzten Jahren zunehmend durchgeführten Untersuchungen des Energieumsatzes im Gewebe mit Hilfe von ^{31}P-Kernmagnetischer Resonanz ($^{31}P_{NMR}$) (Gronenborn und Roth, 1982). Da der pK_2' des anorganischen Phosphates in der Nähe des Zell-pH liegt, ist die Resonanz dieser Phosphorverbindung stark pH-abhängig. Damit ist die Möglichkeit einer zerstörungsfreien, kontinuierlichen Messung des intrazellulären pH und seiner Veränderungen gegeben. Die für die Umgebung des anorganischen Phosphates im quergestreiften Vertebratenmuskel ermittelten pH-Werte von durchschnittlich 7,1-7,2 (im ruhenden Muskel, Hoult et al., 1974; Burt et al., 1976) stimmen etwa mit denen überein, die auch mit der DMO-Methode ermittelt wurden (6,9-7,0 nach Heisler, 1975; Benadé und Heisler, 1978; 6,98 nach Clancy und Brown, 1966; 7,08 nach Roos und Boron, 1978). Abweichende Werte lassen sich durch Unterschiede in den externen Bedingungen er-

klären (vergl. Dawson et al., 1977, 1980). Die Breite des Phosphat-Peaks gibt nach Hoult et al. (1974) Auskunft über die Streuung des pH in der Umgebung des Phosphates. Die mögliche Streuung des pH-Wertes im (weißen?) Skelettmuskel der Ratte umfaßt nach diesen Autoren 0,5 pH-Einheiten. An isolierten Leberzellen konnte der Phosphatpeak in zwei pH-bedingt unterschiedliche Peaks für Phosphat in den Mitochondrien und im Cytosol aufgetrennt werden (Cohen et al., 1978). Damit sind die Messungen des pH_i an isolierten Mitochondrien (s.o.) bestätigt.

$^{31}P_{NMR}$-Messungen an marinen Invertebraten liegen nur vereinzelt vor (z.B. Burt et al., 1976, an *Haliotis cracherodii*, Barrow et al., 1980, an *Tapes watlingi*). Burt et al. geben keinen pH_i für *Haliotis* an, Barrow et al. geben für das Muskelgewebe von *Tapes* bei 22 °C einen pH_i von 7,1-7,2 an. Der P_{CO_2} ist in der betreffenden Publikation nicht angegeben, scheint jedoch bei Begasung mit N_2 oder O_2 nahe 0 Torr gelegen zu haben. Der pH des umgebenden Seewassers betrug 8,1. Berücksichtigt man, daß die Temperatur in den Experimenten von Barrow et al. um 7 °C höher lag, so sind die für *Sipunculus nudus* unter sonst vergleichbaren Bedingungen erarbeiteten pH-Werte von 7,32 ± 0,14 (Hautmuskelschlauch) bzw. 7,40 ± 0,11 (Retraktoren) durchaus mit den von Barrow et al. an *Tapes* gefundenen Werten vergleichbar.

Nach diesen Erörterungen kann offensichtlich davon ausgegangen werden, daß die ermittelten Werte des pH_i in der Muskulatur als repräsentativ für die Zelle anzusehen sind. Allerdings sind mögliche pH-Gradienten in der Mikroumgebung von Enzymen (Cohen und Iles, 1975) bei dieser Aussage außer Betracht gelassen.

In diesem Zusammenhang stellt sich die prinzipielle Frage, ob die Angabe der berechneten Werte als pH oder als H^+-Ionenaktivität sinnvoll und die arithmetische Mittelung der pH-Werte zulässig ist. Diese Diskussion wurde von Wells (1974) für die Messung von pH-Werten in der Körperflüssigkeit von Polychaeten aufgegriffen. Betrachtet man die physiologische Wirkung der H^+-Ionen, so zeigt sich, daß physiologische Parameter wie der

Dissoziationsgrad einer körpereigenen Puffersubstanz oder Enzymaktivitäten durch den thermodynamischen Beitrag der H^+-Ionen zum chemischen Potential (Gibb's freie Energie) des Systems bestimmt werden (Davis, 1967; Waddell und Bates, 1969). Das chemische Potential ist laut Nernst'scher Gleichung eine logarithmische Funktion der Aktivität einer Substanz. Damit ist der pH ein direktes Maß für das chemische Potential der H^+-Ionen. Bei einer Änderung im physiologischen System, wie z.B. bei Anaerobiose ist das ΔG dem Logarithmus des Quotienten der Aktivitäten bzw. dem ΔpH proportional. Wenn der pH ein direktes Maß für die physiologische Wirkung der H^+-Ionen ist, so ist es sinnvoll, bei mehrfacher pH-Messung die mittlere physiologische Wirkung durch arithmetische Mittelung der pH-Werte zu bestimmen, obwohl der ermittelte Wert numerisch nicht der mittleren H^+-Ionenaktivität entspricht (Davis, 1967). Die Abweichung ist allerdings bei geringer Streuung der pH-Werte vernachlässigbar klein (Boutilier und Shelton, 1980). Hinzu kommt, daß die Berechnung der H^+-Ionenaktivität aus dem gemessenen pH-Wert nach Waddell und Bates (1969) fragwürdig ist, da diese Berechnung nicht der modernen Definition des experimentellen pH folgt.

Eine arithmetische Mittelung erscheint im vorliegenden Fall auch deshalb korrekt, weil eine regulatorische Wirksamkeit des pH im Energiestoffwechsel über die Beeinflussung von Enzymaktivitäten diskutiert wird (s. Einleitung). Die pH-Abhängigkeit der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase und der Pyruvatkinase folgt offensichtlich einer Gaußschen Normalverteilung (s. Abb. 2, S. 10).

Das angewandte Verfahren zur Analyse der Pufferkapazität beruht auf der Bestimmung des CO_2-Bindungsvermögens in der Coelomflüssigkeit und im Gewebehomogenat. Grundlage der Bestimmung des Nicht-Bicarbonat-Pufferwertes β_{NB} ist die Annahme, daß in der Körperflüssigkeit und im Gewebe verschiedene Puffersysteme so ineinandergreifen, daß β_{NB} in einem weiten pH-Bereich unabhängig vom pH wird. Nach Piiper (1980) kann dies als gültig angesehen werden. Für die Coelomflüssigkeit erscheint das angewandte Verfahren problemlos, da eine Zerstörung der Zellen

nicht erforderlich und ein aerober Stoffwechsel unter den gewählten Bedingungen gewährleistet ist. Allerdings könnte in der Coelomflüssigkeit ein unterschiedlicher Hämatokrit und damit auch eine unterschiedliche Konzentration des Atempigmentes die Pufferkapazität beeinflussen (vergl. Truchot, 1976; Wood und Randall, 1981; Ultsch und Jackson, 1982), eine Tatsache, die im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen nicht verfolgt wurde, die aber auf die quantitative Analyse der Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt einen Einfluß haben kann. Es wird sich jedoch zeigen, daß die qualitativen Aussagen davon nicht beeinträchtigt werden.

Ein Gewebe muß vor der Äquilibrierung mit verschiedenen CO_2-Partialdrucken homogenisiert werden. Für die Homogenisation erscheint es sinnvoll, das Ionenmilieu der Zelle im Homogenat aufrechtzuerhalten, zumal die Säure-Basen-Eigenschaften der Zellbestandteile von der Ionenstärke und zum Teil auch von der Ionenzusammensetzung abhängen. Letzteres gilt z.B. für das in der Zelle vorliegende ATP und ADP, deren pK_s sich durch Komplexierung mit Magnesium pufferrelevant verändert (s. S. 326; Curtin und Woledge, 1978). Bei der Homogenisation wird jedoch das Stoffwechselgefüge der Zellen zerstört, Kompartimentierungen werden aufgelöst, Verdünnungen führen dazu, daß enzymatische Reaktionen vom Gleichgewicht entfernt werden. Im vorliegenden Fall zeigen pH-Änderungen, die während der Äquilibrierung unter einem P_{CO_2} im Homogenat stattfanden, daß pH-relevante Vorgänge im Stoffwechsel des Homogenates ablaufen. Heisler und Piiper (1971) beobachteten im Homogenat des Rattendiaphragmas eine Acidose. Im vorliegenden Fall trat zunächst eine Alkalose und anschließend eine Acidose auf. Ähnliches beobachteten auch Lykkeboe und Johansen (1975) in Homogenaten verschiedener Vertebratenmuskeln. Die Alkalose zu Beginn der Messungen läßt eine Hydrolyse von Phospho-L-Arginin vermuten, wohingegen die anschließende Ansäuerung auf eine Spaltung von $MgATP^{2-}$ oder eine Bildung saurer Stoffwechselprodukte zurückzuführen sein könnte (vergl. a. Heisler und Piiper, 1971; Lykkeboe und Johansen, 1975). Bis 2,5 h nach Beginn der Messungen wurden die gefundenen Pufferwerte von den beschriebenen Vorgängen nicht deutlich beeinflußt. Letzte Sicherheit darüber kann jedoch erst erlangt werden, wenn regelmäßige Messungen

der Stoffwechselprozesse jede Bestimmung des Pufferwertes im Gewebehomogenat begleiten.

Der gefundene intrazelluläre Pufferwert des Hautmuskelschlauches stimmt mit β_{NB} = 35,1 ± 1,5 mmol/pH x l Zellwasser mit dem der Retraktoren (β_{NB} = 32,9 ± 2,5 mmol/pH x l) nahezu überein. Untersuchungen über den Pufferwert im Gewebe anderer mariner Invertebraten liegen nur in geringfügigem Ausmaß vor. Bei *Loligo* und *Aplysia* wurden in Neuronen mit 25 (Boron und De Weer, 1976), 30 (Thomas, 1976) bzw. 33 mmol/pH x l Zellwasser (Owen und Brown, 1980) Werte der gleichen Größenordnung gefunden wie in der Muskulatur von *Sipunculus nudus*. Im Vergleich zu den Pufferwerten der Vertebratenmuskulatur erscheint der Pufferwert des Hautmuskelschlauches von *Sipunculus nudus* mit umgerechnet 20,2 mmol/pH x kg Muskel gering. Heisler und Piiper (1971 und 1972) fanden im Rattendiaphragma einen Pufferwert von 41 mmol/pH x kg Muskel. Einige Autoren sehen einen Zusammenhang zwischen dem Pufferwert der Muskulatur und der Arbeitsweise bzw. der Kapazität des anaeroben Energiestoffwechsels. Lykkeboe und Johansen (1975) ordneten z.B. einen Pufferwert von 75,3 mmol/pH x kg des Brustmuskels vom Huhn im Vergleich mit 49,5 mmol/pH x kg des Brustmuskels der Taube einer mehr anaeroben Arbeitsweise des Huhnmuskels zu. Die Muskeln mit höherer anaerober Arbeitsleistung besitzen einen höheren Pufferwert aufgrund eines höheren Gehaltes an Anserin und Carnosin als Puffersubstanzen (Davey, 1960; Crush, 1970; Lykkeboe und Johansen, 1975; Burton, 1978). Eine Beziehung zwischen anaerober Leistungskapazität und Pufferwert wird auch von Castellini und Somero (1981) postuliert. Ein hoher Pufferwert verhindert demnach eine pH-bedingte Hemmung der Glykolyse, die bei einer hohen anaeroben Durchsatzrate durch die Glykolyse sonst frühzeitig auftreten würde.

Wenn ein Vergleich zwischen Vertebraten und niederen Invertebraten möglich ist, so erscheint der vergleichsweise geringe Pufferwert der Muskulatur des *Sipunculus* verständlich. Bei den bisherigen Erörterungen wurde zwar eine gute biochemische Ausstattung der Muskulatur für anaerobe Tätigkeit diskutiert, es wurde jedoch gleichzeitig eine vergleichsweise geringe maxima-

le Stoffwechselrate bei Grabtätigkeit und die große relative Bedeutung des in hohen Konzentrationen vorliegenden Phosphagens hervorgehoben (s. S. 267). Aufgrund der Verschiebung des pK'_S des Phosphates, die bei der Spaltung von 4,5 auf 6,81 erfolgt, stellt das Phosphagen nicht nur einen Speicher energiereichen Phosphates, sondern auch eine potentielle Puffersubstanz dar, die bei Bedarf, d.h. bei funktionsbedingter bzw. biotopbedingter Anaerobiose aktiviert wird. Bei Anaerobiose im freien Wasser wurde ein effektiver Pufferwert β_{NB} von 47,3 mmol/pH x l Zellwasser ermittelt. Gegenüber dem Pufferwert unter normoxen Bedingungen β_{NB} = 35,1 mmol/pH x l Zellwasser ist also eine Steigerung um 35 % festzustellen. Die Überlegung gilt unter der Bedingung, daß die Menge an hydrolysiertem Phospho-L-Arginin bei der Bestimmung des Nicht-Bicarbonat-Pufferwertes im Gewebehomogenat tatsächlich vernachlässigbar gering war und daß der Abbau des Phospho-L-Arginins zu einer stöchiometrischen Akkumulation von Phosphat in der Zelle führt. Ein derartiger stöchiometrischer Zusammenhang zwischen Phosphagenumsatz und Konzentrationsanstieg des anorganischen Phosphates wurde für Phosphocreatin von Dawson et al. (1978, 1980) sowie für Phospho-L-Arginin von Barrow et al. (1980) und Ebberink und de Zwaan (1980) gezeigt.

Die Körperflüssigkeit des *Sipunculus nudus* ist vor allem aufgrund ihres relativ großen Volumens für den Säure-Basen-Haushalt von Bedeutung. Sie nimmt 52 % des Körpergewichtes ein, verglichen mit 7-10 % bei Vertebraten oder 25-30 % bei Crustaceen (Prosser, 1973). Der Pufferwert der Coelomflüssigkeit ist dagegen mit β_{NB} = 4,6 mmol/pH x l relativ gering. Vergleichswerte bei anderen Tiergruppen sind (jeweils in mmol/pH x l): *Urechis* 4,5 (Prosser, 1973), *Nephthys* 8 (Clark, 1964), *Glycera* 7,4 (Cole, 1940, zitiert nach Clark, 1964), *Arenicola* (Blut) ca. 25 bei pH 7,5 (Toulmond, 1971), *Cardisoma* (Crustacea) 12,1 (Wood und Randall, 1981), Fische 5 bis 20 (Albers, 1970), Frosch 16,4 (Prosser, 1973), Mensch 29 (Prosser, 1973). Ein Protonentransfer in die Coelomflüssigkeit könnte demnach die intrazelluläre Pufferung unterstützen und für eine Regulation des pH-Wertes von Bedeutung sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde für die Betrachtung der Puffereigenschaften eines Kompartimentes erstmals der Begriff der Pufferung P definiert (s. S. 44). Diese Größe erlaubt es, den effektiven Beitrag des Bicarbonatpuffers in einem konkreten Experiment unter Berücksichtigung von Änderungen des P_{CO_2} in die Betrachtungen einzubeziehen. Die Berechnung der Bicarbonatpufferung P_{Bic} scheint der Angabe eines Bicarbonatpufferwertes als $\beta_{Bic} = 2{,}303 \left[HCO_3^-\right]$ überlegen, da dieser sich in der Regel mit der Bicarbonatkonzentration im Experiment verändert und so keine praktische Bedeutung besitzt. Da die Nicht-Bicarbonat-Pufferung P_{NB} definitionsgemäß dem Nicht-Bicarbonat-Pufferwert β_{NB} entspricht, läßt sich durch Addition von P_{NB} und P_{Bic} der Beitrag beider Puffersysteme zur Pufferung in einem Experiment als Gesamtpufferung P_{tot} zusammenfassen. Unter Verwendung dieser Größe ist eine graphische Darstellung der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt wie in Abb. 84, S. 198, möglich. In dieser Abbildung konnte der Beitrag des Phospho-L-Arginins an der Pufferung dargestellt und auf diese Weise abgeschätzt werden, wie die Hydrolyse des Phospho-L-Arginins die Veränderung des pH_i beeinflußt.

4.3.3. Stoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt im Experiment

Eine Analyse der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt umfaßt während eines Experimentes die Bestimmung von pH, P_{CO_2} und Bicarbonatkonzentration. Die Auftragung der experimentellen Daten im pH-Bicarbonat-Diagramm erlaubt eine optische Zusammenfassung der Veränderungen, eine qualitative Betrachtung des Verlaufs der Veränderungen und bei bekanntem Pufferwert im betrachteten Kompartiment eine quantitative Bestimmung der Menge der metabolisch und respiratorisch gebundenen oder freigesetzten Protonen.

4.3.3.1. Qualitative und quantitative Betrachtung: Anaerobiose im freien Wasser

Wie schon erwähnt, ist es nicht ohne Aufarbeitung der Tiere möglich, den pH_i sowie Konzentrationsänderungen im Energiestoffwechsel zu bestimmen. Nur die Gas- und pH-Messungen in der Coelomflüssigkeit sind während eines Versuches mehrfach

an einem (großen) Tier durchführbar. Diese Messungen stellen also im Vergleich mit den gleichen Messungen an Tieren, die zwecks pH_i- und Metabolitbestimmungen aufgearbeitet wurden, eine gute Möglichkeit dar, den zeitlichen Verlauf erarbeiteter

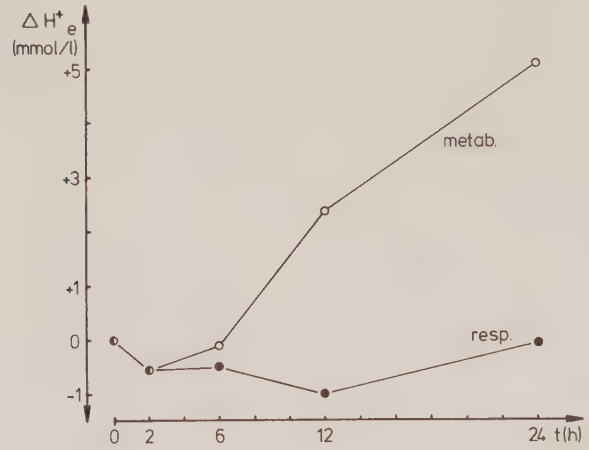


Abb. 89:
Änderungen im Protonenhaushalt der Coelomflüssigkeit (ΔH_e^+) kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (quantitative Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes Abb. 62, S. 169, Angegeben sind die metabolisch (metab.) und respiratorisch (resp.) bedingten Änderungen.

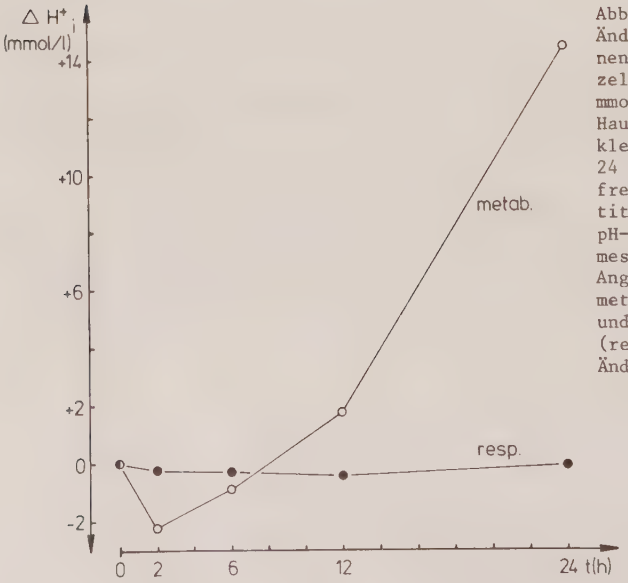


Abb. 90:
Änderungen im Protonenhaushalt des Intrazellulärraumes (ΔH_i^+, mmol/l Zellwasser), im Hautmuskelschlauch kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (quantitative Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes Abb. 63, S. 169, Angegeben sind die metabolisch (metab.) und respiratorisch (resp.) bedingten Änderungen.

Veränderungen zu überprüfen:
Bei kleinen Tieren führte die Aufarbeitung einzelner Tiere für jeden Meßzeitpunkt z.B. zu dem Ergebnis, daß am Ende einer 24-stündigen Anaerobiose scheinbar ein erneuter Anstieg des P_{CO_2} auftritt (s. Abb. 61, S. 167). Bei wiederholter Messung des P_{CO_2} an denselben großen Tieren trat dieses Phänomen nicht auf. Weiterhin trat die Alkalose zu Beginn der Anaerobiose bei großen Tieren dadurch deutlicher hervor als bei kleinen Tieren, daß sich bei zwei Tieren sogar ein Anstieg der Bicarbonatkonzentration im Coelom ergab. Allein bei einem Tier wurde die Zunahme des Bicarbonatgehaltes offensichtlich durch die gleichzeitige Abnahme des P_{CO_2} verhindert (s. Abb. 64, S. 170).

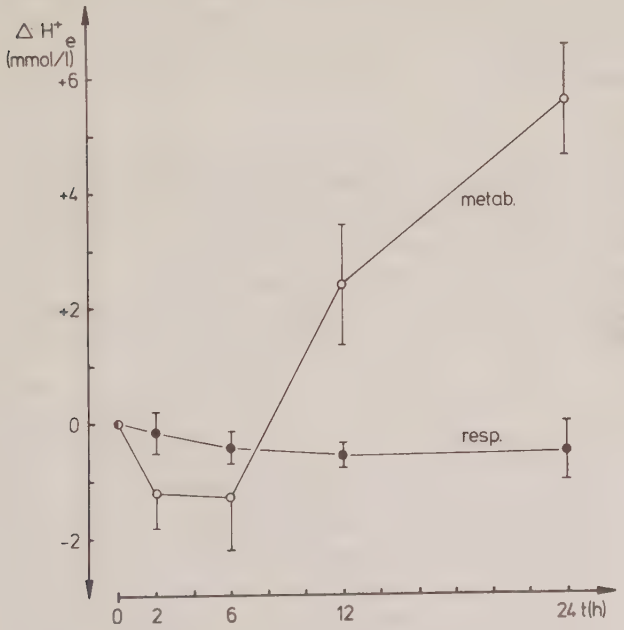


Abb. 91: Änderungen im Protonenhaushalt der Coelomflüssigkeit (ΔH_e^+) von drei großen Tieren während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (quantitative Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes Abb. 66, S. 173). Angegeben sind die metabolisch (metab.) und respiratorisch (resp.) bedingten Änderungen ($\bar{x} \pm SD$).

Bei Anaerobiose im freien Wasser verhalten sich pH und pH_e gleichläufig (s. Abb. 83, S. 197). Abb. 89 und 90 bestätigen in einer quantitativen Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes noch einmal die Gleichläufigkeit der Vorgänge in Extra- und Intra-

zellulärraum, die zwar nicht quantitativ, aber doch qualitativ eindeutig feststellbar ist. Für den Extrazellulärraum können auch die Daten herangezogen werden, die an großen Tieren gewonnen wurden (s. Abb. 91), da diese eine verläßlichere Auskunft über die Veränderungen geben (s.o.). In die Abbildungen ist auch das Ausmaß der respiratorisch verursachten Änderungen im Protonenhaushalt einbezogen.

Da die Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt des Intra- und Extrazellulärraumes gleichläufig sind, reicht es bei Anaerobiose im freien Wasser aus, für die qualitative Betrachtung die extrazellulären Veränderungen zu berücksichtigen, die an den großen Tieren erarbeitet wurden. Betrachtet man die Auftragungen im pH-Bicarbonat-Diagramm und unterscheidet nach Heisler und Schorer (1970) und Davenport (1974) zwischen respiratorischen und metabolischen Prozessen, so ergibt sich zusammenfassend bei Anaerobiose im freien Wasser folgendes Bild (s. Abb. 66, S. 173):
Die ersten 6 h der Anaerobiose sind durch eine Alkalose gekennzeichnet, die teils respiratorischen, teils metabolischen Ursprungs ist. Der respiratorische Anteil der Alkalose ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß der P_{CO_2} im Inkubationsmedium mit dem Übergang zur Stickstoffbegasung abnimmt. Denkbar ist jedoch auch, daß die geringere CO_2-Produktion während der Anaerobiose (s. Tab. 31, S. 334) sich auf den P_{CO_2} im Coelom auswirkt. Der metabolische Anteil der Alkalose ist wahrscheinlich durch die Hydrolyse des Phospho-L-Arginins bedingt (s.u.).

In der Zeit zwischen 6 und 12 h Anaerobiose wird die Alkalose durch eine Reduktion des Bicarbonatgehaltes, also metabolisch kompensiert. Da die Konzentrationsabnahme des Bicarbonates sich nach 12 h weiter fortsetzt, ist es richtig, von einer nach dieser Zeit beginnenden, nicht kompensierten metabolischen Acidose zu sprechen. Der Rückgang der Bicarbonatkonzentration scheint demnach in der Zeit zwischen 6 und 12 h Anaerobiose im Sinne einer kompensatorischen Regulation des pH-Wertes zu wirken, führt aber schließlich doch zu einer Acidose.

Die metabolischen Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt während 24 h Anaerobiose im freien Wasser stehen offensichtlich in keiner quantitativen Beziehung zu den bekannten Veränderungen im Energiestoffwechsel (s. Tab. 22, S. 199). Die genannte Diskrepanz wird noch einmal deutlich, wenn man in Abb. 92 den zeitlichen Verlauf der Veränderungen in der Protonenbilanz des Säure-Basen-Haushaltes und des Energiestoffwechsels

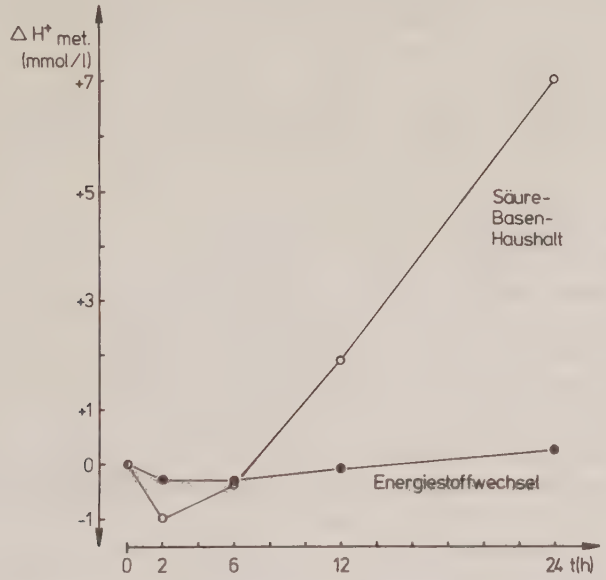


Abb. 92: Gegenüberstellung der metabolisch bedingten Veränderungen in der Protonenbilanz des Säure-Basen-Haushaltes und der Veränderungen in der Protonenbilanz des Energiestoffwechsels kleiner Tiere während 24 h Anaerobiose im freien Wasser (s. Tab. 22, S. 199). Angabe der Veränderungen als ΔH^+_{met} in mmol/l Körperwasser.

betrachtet. Allerdings waren die Veränderungen in der Regel etwa gleichsinnig, d.h., eine Nettoaufnahme von H^+ im Energiestoffwechsel wurde von einer meßbaren metabolischen Alkalose begleitet, eine Nettoabgabe dagegen von einer meßbaren metabolischen Acidose. Allein in der Übergangszeit von der Alkalose zur Acidose zwischen 2 und 6 h Anaerobiose war im Säure-Basen-Haushalt der untersuchten kleinen Tiere bereits eine Freisetzung von Protonen meßbar, während im Energiestoffwechsel kaum

eine Änderung auftrat. Hier erweist sich allerdings wieder als Nachteil, daß eine Beobachtung von Veränderungen des pH_i nicht kontinuierlich an einem Tier möglich ist. Betrachtet man nämlich die Veränderungen im extrazellulären Säure-Basen-Haushalt der großen Tiere, so erhält man für die Zeit zwischen 2 und 6 h ein geringeres ΔH^+ von durchschnittlich - 0,07 mmol/l. Ein so geringes ΔH^+ stimmt mit den Änderungen im Energiestoffwechsel besser überein und erscheint für den Gesamtorganismus plausibler, da dieses Ergebnis bei kontinuierlichen Messungen an denselben Tieren gewonnen wurde.

Die in das Inkubationswasser ausgeschiedenen Metabolite wurden bei der quantitativen Analyse nicht berücksichtigt, da möglich ist, daß sie den Organismus in undissoziierter Form verlassen. Dies würde der üblichen Auffassung entsprechen, nach der schwache Säuren und Basen Zellmembranen in geladener Form nur schlecht passieren können (Milne et al., 1958). Untersuchungen zur pH-Abhängigkeit der Laktatbewegungen lassen z.B. auf eine Diffusion der undissoziierten Form schließen (Mainwood und Worsley-Brown, 1975; Roos, 1975). Für Propionat wurde ebenfalls postuliert, daß es die Zellmembranen in undissoziierter Form passiert (De Hemptinne und Marannes, 1979; Keifer, 1980). Die hier diskutierte Auffassung wird möglicherweise dadurch bestätigt, daß Pionetti und Toulmond (1980) im Inkubationswasser von *Arenicola marina* bei Anaerobiose eine Ansäuerung fanden, die auf undissoziiert ausgeschiedene Fettsäuren zurückgeführt werden könnte. Die Annahme, daß Acetat und Propionat in undissoziierter Form ausgeschieden werden, könnte sich allerdings dann als unrichtig erweisen, wenn die Nephridien an der Ausscheidung beteiligt sind. Nimmt man den ionischen Verlust der Fettsäuren an, so erhöht sich die Menge an H^+ in der Protonenbilanz des Energiestoffwechsels für den Zeitraum von 0-24 Stunden Anaerobiose von 0,17 auf 1,15 mmol/l Körperwasser. Die Diskrepanz zu der gefundenen Protonenmenge von + 7,13 mmol/l wird hierdurch jedoch nicht wesentlich verkleinert.

Der Einfluß, den die untersuchten sauren Metabolite auf den Säure-Basen-Haushalt haben, scheint nach den vorangegangenen Erörterungen gering. Diese qualitative Aussage verliert auch

dadurch nicht ihre Gültigkeit, daß sowohl der Pufferwert β_{NB} der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere aufgrund des vergleichsweise geringen Hämatokritwertes (s. S. 21) als auch der effektive Pufferwert β_{NB} des Gewebes aufgrund einer im Homogenat erfolgten Phosphagenspaltung vielleicht zu hoch bemessen wurden. Kämen beide Fehlermöglichkeiten zusammen, dh. läge der Pufferwert der Coelomflüssigkeit kleiner Tiere bei halbem Hämatokrit um die Hälfte niedriger als bei großen Tieren und wäre sämtliches Phospho-L-Arginin im Gewebehomogenat hydrolysiert, so würde sich das berechnete ΔH^+ für den Zeitraum von 0 bis 24 h Anaerobiose nur um 21 % bis auf 5,60 mmol/l Körperwasser verringern. Die Menge von 0,17 bzw. 1,15 mmol Protonen/l Körperwasser (s.o.) aus dem Energiestoffwechsel ist demgegenüber immer noch sehr gering.

Die Alkalose, die in den ersten Stunden der Anaerobiose meßbar ist, ist sicherlich auf die Hydrolyse von Phospho-L-Arginin zurückzuführen. Seltsamerweise erreicht auch die berechnete Aufnahme von Protonen durch Hydrolyse des Phospho-L-Arginins nicht das aufgrund der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt erwartete Ausmaß. Da die Ausgangskonzentrationen des Phospho-L-Arginins bei aerob gehälterten Tieren relativ starke Individualschwankungen zeigen (s. Tab. 6, S. 72) scheint ein streuungsbedingter Fehler bei der Bestimmung der Konzentrationsabnahme des Phospho-L-Arginins die einzige mögliche Erklärung. Insgesamt zeigt sich die wichtige Rolle des Phosphagens als intrazellulärer Puffer, der dem Einsetzen einer metabolischen Acidose bis 12 h Anaerobiose entgegenwirkt. Während 24 h Anaerobiose wird die Abnahme des pH durch die Hydrolyse des Phosphagens um 25 % verringert (s. Abb. 84, S. 198).

Im weiteren Verlauf der Anaerobiose muß der extreme quantitative Unterschied zwischen der ermittelten Protonensumme des Energiestoffwechsels und der des Säure-Basen-Haushaltes unverständlich bleiben. Es stellt sich die Frage, welche Mechanismen zur Erklärung der Diskrepanz herangezogen werden könnten. Potentiell wäre eine Bildung weiterer acider Endprodukte denkbar, die während der vorliegenden Untersuchungen nicht erfaßt wurden. Unbekannte Vorgänge im Energiestoffwechsel wurden bereits unter Kap. 4.1.1., S.224f. diskutiert. Sie könnten z.B.

die Synthese weiterer Opine oder eine „anoxe endogene Oxidation" nach Zs.-Nagy (1977) umfassen. Ein Einfluß des Atempigmentes auf den Säure-Basen-Haushalt kann ausgeschlossen werden, da keine pH-Abhängigkeit der Sauerstoffbindungsverhältnisse vorliegt (Florkin, 1933; Kubo, 1953; Bates et al., 1968).

Neben unbekannten Vorgängen im Energiestoffwechsel kommen als weitere Erklärungsmöglichkeit wohl nur Ionentransferprozesse in Frage. Die wichtige Rolle von Ionentransfervorgängen für den Säure-Basen-Haushalt wasserlebender Tiere wurde u.a. von Heisler (1978, 1980, 1982) und Cameron (1978, 1979) erarbeitet. Für niedere Invertebraten liegen allerdings kaum Daten über derartige Vorgänge vor. Im vorliegenden Fall würden solche Prozesse jedoch nicht nur zur Regulation des Säure-Basen-Haushaltes beitragen - dies gilt für die Kompensation der anfänglichen Alkalose - sondern schließlich zu einer Acidose führen. Da die Acidose dann hauptsächlich durch eine Reduktion des Bicarbonatgehaltes bewirkt wird, könnte man bei längerfristiger Anaerobiose im Wasser durchaus von einem Bicarbonatverlust sprechen. Allerdings steht der experimentelle Nachweis eines Bicarbonatverlustes noch aus. Erklärbar wäre ein solcher Bicarbonataus-(oder H^+-Ein-)strom aus einer energetischen Insuffizienz der Tiere:
Es ist bekannt, daß die Verteilung der H^+-Ionen zwischen Intra- und Extrazellulärraum nicht mit einem Gibbs-Donnan-Gleichgewicht beschrieben werden kann (Caldwell, 1956; Hinke und Menard, 1976), sondern wahrscheinlich durch einen aktiven Ionenaustausch unter ATP-Verbrauch aufrechterhalten wird (Boron, 1978, 1980; Roos und Boron, 1981). Es ist auch bekannt, daß wasserlebende Tiere wie z.B. Crustaceen und Fische ihren Säure-Basen-Haushalt durch (aktiven) Ionenaustausch regulieren (Truchot, 1979; Heisler, 1980; Cameron, 1978). Wenn die Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Status im Organismus von aktiven, ATP-verbrauchenden Prozessen abhängt, so ist denkbar, daß bei längerfristiger Anaerobiose die Konstanz des pH aus energetischen Gründen nicht mehr gewährleistet ist. Es ist jedoch allein deswegen noch nicht gerechtfertigt, von prämortalen Prozessen zu sprechen, da die Tiere in der Lage sind, sich nach der Anaerobiose zu erholen und da in der physiologischen

Situation des Niedrigwassers eine ähnliche Diskrepanz zwischen Stoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt auftritt wie bei Anaerobiose im freien Wasser (s. S. 357ff). Es ist nicht anzunehmen, daß die Muskulatur am Ionentransfer zum oder vom Außenmedium beteiligt ist, zumal der Energieinhalt im Hautmuskelschlauch nicht wesentlich abfällt. Untersuchungen über den Energiehaushalt z.B. der Nephridien, die ja eine wesentliche Rolle spielen könnten, liegen jedoch noch nicht vor.

Bis zur experimentellen Beantwortung der Frage nach einer Acidose durch Bicarbonatverlust oder nach weiteren Vorgängen im Stoffwechsel muß die Diskrepanz in der quantitativen Bilanz zwischen Säure-Basen-Haushalt und Energiestoffwechsel ungeklärt bleiben.

4.3.3.2. Erholung nach Anaerobiose im freien Wasser

Nach 24 h Anaerobiose setzt sich die Acidose in der Coelomflüssigkeit mit einsetzender Luftbegasung zunächst verstärkt fort. Zu einer metabolischen kommt nach 1 h eine respiratorische Komponente hinzu (s. Abb. 67, S. 174). Das Ausmaß des P_{CO_2}-Anstiegs geht über den Anstieg des P_{CO_2} im Seewasser hinaus, der nach dem Übergang von der Stickstoff- zur Luftbegasung mit einem Betrag von ca. 0,2 Torr zu erwarten ist. Erst nach 3-6 h kehren sich die Vorgänge im Säure-Basen-Haushalt um. 24 h Aerobiose führen unter CO_2-Abgabe und Auffüllung des Bicarbonatgehaltes dazu, daß die Acidose metabolisch und respiratorisch kompensiert wird.

Der metabolisch verursachte Anteil der erholungsbedingten Acidose läßt sich wahrscheinlich unter anderem auf eine Resynthese von Phospho-L-Arginin zurückführen, die mit dem Beginn der Luftbegasung einsetzt (vergl. Lipmann und Meyerhof, 1930). Die Resynthese entspricht einer Umkehr der Gleichung (2), S. 327. Zwar liegen bei *Sipunculus nudus* keine weiteren Untersuchungen über den Erholungsstoffwechsel nach biotopbedingter Anaerobiose vor, jedoch ist bekannt, daß das Phosphagen in den ersten Stunden der Erholung resynthetisiert wird (Pörtner et al., 1979; Gäde und Meinardus, 1981). Weiterhin ist möglich, daß *Sipunculus nudus* mit einsetzender Luftbegasung Octopin anhäuft

und daß die Acidose dadurch verstärkt wird. Der experimentelle Nachweis einer solchen erholungsbedingten Octopinakkumulation steht jedoch noch aus. Im Vergleich mit *Mytilus edulis* ist sie jedoch nicht unwahrscheinlich, da Zurburg et al. (1982) hier eine erholungsbedingte Akkumulation von Strombin, einem weiteren Opin und Endprodukt der anaeroben Glykogenolyse, beobachten konnten. Burggren und Cameron (1980) beobachteten bei *Ictalurus punctatus* unter Hypoxie eine extrazelluläre Acidose, die sich nach der Rückkehr zu normoxen Bedingungen ebenfalls verstärkte und mit einer Laktatakkumulation im Blut verbunden war. Dies alles erinnert an die Octopinakkumulation nach einer funktionsbedingten Anaerobiose, wie sie für Pecteniden beschrieben wurde (Grieshaber, 1978; Livingstone et al., 1981).

Der bei der Erholung zunächst ansteigende P_{CO_2} läßt sich auf der einen Seite als Folge der raschen Ansäuerung verstehen. Die Abgabe des CO_2 an das Atemwasser erfolgt dann nicht so rasch wie die Freisetzung des CO_2 aus dem vorhandenen Bicarbonat. Auf der anderen Seite steigt der gesamte CO_2-Gehalt nach 1 h Erholung an, der Bicarbonatgehalt fällt nicht weiter ab, so daß der erhöhte P_{CO_2} auch Folge eines erhöhten Sauerstoffverbrauches sein könnte. O_2-Verbrauchsmessungen nach Anaerobiose liegen bei *Sipunculus nudus* nicht vor, so daß keine Angaben über die Rückzahlung einer Sauerstoffschuld möglich sind. Eine O_2-Schuld konnte jedoch bei einigen fakultativen Anaerobiern nachgewiesen werden (von Brand et al., 1955; de Vooys und de Zwaan, 1978).

Es ist auch denkbar, daß der Anstieg des gesamten CO_2-Gehaltes bereits Folge kompensatorischer Vorgänge ist, die zu einer Aufnahme von Bicarbonat aus dem Seewasser oder einer Abgabe von H^+ an das Seewasser führen. Die Metabolisierung der untersuchten Anaerobioseprodukte, die der Konzentrationsabnahme von Succinat, Propionat und Acetat in der Coelomflüssigkeit zufolge nach ca. 12 h beendet ist, kann nämlich quantitativ nicht allein für die metabolische Kompensation der Acidose verantwortlich gemacht werden. Das Ausmaß der anaerobiosebedingten Acidose war ja auch nicht durch Anhäufung von Succinat, Propionat und Acetat erklärbar. Diese Überlegung gilt jedoch nur,

wenn nicht weitere, noch unbekannte Stoffwechselendprodukte für das Ausmaß der Acidose verantwortlich sind.

Als wasserlebendes Tier besitzt *Sipunculus nudus* keine ausgeprägte Möglichkeit, Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt respiratorisch zu kompensieren. Der Grund hierfür liegt darin, daß die Versorgung mit Sauerstoff im vergleichsweise sauerstoffarmen Medium Wasser im Vordergrund steht (Rahn, 1966; Dejours, 1975; Cameron, 1978, 1979). Wenn keine weiteren aciden Endprodukte metabolisiert werden, bleiben als Möglichkeit zur Erklärung der kompensatorischen Vorgänge die genannten Ionentransportprozesse, eine Ausscheidung von H^+ an das umgebende Wasser oder eine Aufnahme von Bicarbonat aus dem Wasser. Wie schon angedeutet (s.o., S. 350) werden solche Ionentransportprozesse bei Temperaturschwankungen, Hyperkapnie und Erholung nach Hypoxie und Aktivität z.B. an Crustaceen, Teleosteern und Elasmobranchiern als regulatorisch wichtig für den Säure-Basen-Haushalt diskutiert (Truchot, 1979; Heisler et al., 1976b; Heisler, 1978, 1980, 1982; Cameron, 1978; Heisler und Neumann, 1980) Eine experimentelle Bestätigung steht für *Sipunculus nudus* noch aus.

4.3.3.3. Energiestoffwechsel und Säure-Basen-Haushalt in simulierten natürlichen Situationen

Der artifiziellen Situation einer Anaerobiose im freien Wasser sind bei der Betrachtung des Säure-Basen-Haushaltes auch die Situationen gegenüberzustellen, in denen die Tiere sich im Sand befinden. Diese Situationen wurden im Labor simuliert. Unter simulierten natürlichen Bedingungen wurde in der Regel nur das Verhalten der extrazellulären Parameter des Säure-Basen-Haushaltes untersucht, so daß hier nur eine qualitative bzw. semiquantitative Betrachtung möglich ist. Zwar läßt sich die Menge der im extrazellulären Kompartiment gebundenen oder freigesetzten Protonen berechnen, eine quantitative Analyse der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt bleibt jedoch ohne Kenntnis der Veränderungen in der Zelle unvollständig.

(a) biotopbedingte Anaerobiose: Tiere im Sand bei extremer Hypoxie im Wasser, Tiere verschüttet, Tiere im Sand bei Niedrigwasser

Experimentelle Anaerobiose führt auch bei den Tieren zu einer Acidose, die sich in ihrer natürlichen Umgebung, nämlich im Sand befinden. Im Unterschied zu Tieren, die frei im Wasser liegen, weisen große Tiere, die sich im Sand aufhalten, bei durchschnittlich etwas niedrigeren pH- und erhöhten P_{CO_2}-Werten in der Coelomflüssigkeit eine höhere Bicarbonatkonzentration auf. Die pH_i-Werte zeigen bei Tieren im Sand im Vergleich zu Tieren im Wasser keine Unterschiede. Der Ruhezustand im Sand befindlicher Tiere läßt sich demnach als Zustand einer kompensierten respiratorischen Acidose oder der Ruhezustand im Wasser liegender Tiere als Zustand einer kompensierten respiratorischen Alkalose beschreiben. Eine solche Korrektur des pH-Wertes ist bereits von grabenden Amphibien (Boutilier et al., 1979), Crustaceen (Truchot, 1975a) sowie Fischen und Crustaceen unter Hyperkapnie (Heisler, 1980, 1982; Truchot, 1975b) bekannt. Der P_{CO_2} und auch der Bicarbonatgehalt liegen bei einer kompensierten respiratorischen Acidose vergleichsweise hoch. Verursacht wird dieser Unterschied durch den schlechteren Gasaustausch der Tiere im Sand, die das Atemwasser im Gegensatz zu im Wasser liegenden Tieren aktiv heranführen müssen.

Die respiratorische Situation der Tiere hat auch einen großen Einfluß auf die Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt, die sich bei Anaerobiose ergeben. Abb. 70, S. 180, zeigt die Gegensätzlichkeit der Vorgänge im Extrazellulärraum von Tieren, die während der Anaerobiose Kontakt mit dem überstehenden Wasser hatten, und von Tieren, deren Kontakt zum Wasser durch Verschütten der Atemhöhle mit Sand unterbrochen war. Es ist eindeutig, daß der unterschiedliche Verlauf der Veränderungen auf die unterschiedlichen Möglichkeiten der Tiere zum Gasaustausch zurückzuführen ist. Wenn die Tiere Kontakt zum überstehenden Wasser haben, ist der Verlauf der Veränderungen ähnlich wie bei Anaerobiose im freien Wasser. Eine Acidose setzt erst nach 12 h Anaerobiose ein. Sie ist metabolischen Ursprungs. Die anfängliche Alkalose ist allerdings bereits nach 3 h durch Abnahme des Bicarbonatgehaltes kompensiert. Ursache hierfür könnte

die vorübergehend starke Anhäufung von Acetat und auch Propionat im Coelom sein, die bereits auf Seite 322 als Resultat des höheren CO_2-Gehaltes im Sand befindlicher Tiere diskutiert wurde.

In der Zeit von 3-12 h Anaerobiose fällt zwar der Bicarbonatgehalt in der Coelomflüssigkeit ab, jedoch wird der pH durch gleichzeitige Abnahme des P_{CO_2} konstant gehalten, so daß man von einer respiratorisch kompensierten metabolischen Acidose sprechen kann. Nach 12 h setzt, wie bereits erwähnt, eine metabolische Acidose ein, deren Ausmaß durch eine geringe Abnahme des P_{CO_2} nur noch wenig kompensiert wird.

Bei verschütteten Tieren führt der unterbrochene Kontakt zum Oberflächenwasser zu einer respiratorischen Acidose. Da der Verlauf der Veränderungen nicht der Steigung der Puffergeraden folgt, muß zusätzlich auf eine metabolische Acidose geschlossen werden. Vergleicht man das Ausmaß der metabolischen Acidose bei simuliertem Niedrigwasser (s.u.) und bei Sedimentverschiebungen (= Tiere verschüttet), so tritt bei verschütteten Tieren die stärkere Acidose auf ($\Delta H^+_{met\ 0-9\,h}$ = + 3,89 mmol/l, berechnet für Abb. 70, S. 180, gegenüber $\Delta H^+_{met\ 0-9\,h}$ = 1,60 mmol/l, berechnet für Abb. 73, S. 184). Wahrscheinlich bilden verschüttete Tiere mehr Octopin, da sich bei ihnen eine befreiende Grabtätigkeit nachweisen läßt. Das Ausmaß des biotopbedingten Anaerobiosestoffwechsels unterscheidet sich bei ihnen den Konzentrationsänderungen von Succinat, Acetat und Propionat im Coelom zufolge nicht wesentlich von dem anaerob im Sand gehälterter Tiere, die Kontakt mit dem überstehenden Wasser haben.

Bei Niedrigwasser tritt in den betroffenen Tieren eine ähnliche respiratorische Acidose auf wie in verschütteten Tieren. Es kommt zu einer internen Hyperkapnie. Der unterschiedliche Verlauf der Veränderungen bei jedem der untersuchten großen Tiere läßt sich wahrscheinlich auf ihre unterschiedliche Position im Sand zurückführen (s. Abb. 71, S. 182, und 74, S. 185). Jede Position beinhaltet unterschiedliche respiratorische Möglichkeiten. Der metabolische Anteil an der Acidose ist bei Tier 2 und 3 der untersuchten Einzeltiere in den ersten 6-9 Stunden des Niedrigwassers im Gegensatz zu Tier 1 vernachlässigbar gering. Bei der Bildung der Mittelwerte ergibt sich

eine Konstanz des Bicarbonatgehaltes. Diese Tendenz läßt sich bestätigen, wenn man den Durchschnitt der kleinen Tiere betrachtet. Hier zeigt sich in den ersten 6 h Niedrigwasser ebenfalls eine respiratorisch-metabolische Acidose, deren respiratorischer Anteil in der Zeit nach 6 h Niedrigwasser keine wesentliche Änderung mehr aufweist. Bei den großen Tieren setzt sich dagegen ein geringerer Anstieg des P_{CO_2} auch nach 6 h noch fort. Es ist wahrscheinlich, daß der P_{CO_2} sich nach dem Anstieg in den ersten Stunden des Niedrigwassers einem Sättigungswert

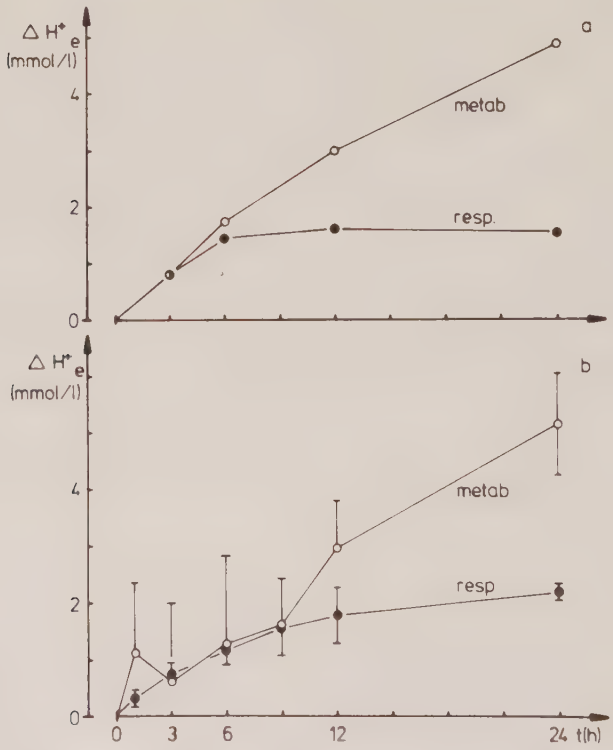


Abb. 93: Änderungem im Protonenhaushalt der Coelomflüssigkeit (ΔH^+_e) während 24 h simulierten Niedrigwassers; a: quantitative Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes Abb. 75, S. 186, für kleine Tiere; b: quantitative Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes Abb. 74, S. 185, für drei große Tiere ($\bar{x} \pm SD$). Angegeben sind die metabolisch (metab.) und respiratorisch (resp.) bedingten Änderungen.

nähert, bei dem sich CO_2-Produktionsrate und -Abgaberate entsprechen. Die Abgabe wird dadurch erleichtert, daß sich die Tiere nach längerer Zeit des Niedrigwassers mit dem Vorderende an die Luft begeben.

Auffällig ist, daß kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen dem zeitlichen Verlauf der Veränderungen im extrazellulären Säure-Basen-Haushalt und den Veränderungen im Energiestoffwechsel besteht. Abb. 93a und b zeigen, daß mit dem Beginn des Niedrigwassers eine Acidose eintritt, deren metabolische H^+-Produktion über 24 h Anaerobiose relativ konstant bleibt, während die respiratorische H^+-Produktion das bereits beschriebene Sättigungsverhalten aufweist.Allein der anfänglich hohe Wert des ΔH^+ der großen Tiere könnte Folge der festgestellten intensiven Produktion von Succinat, Propionat, Acetat und Octopin sein. Der Rückgang der Menge der metabolisch gebildeten Protonen in der Zeit zwischen 1 und 3 h Niedrigwasser wäre dann Folge der festgestellten Metabolisierung der sauren Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels. Die weiter zunehmende metabolische Acidose ist jedoch wohl auch bei Niedrigwasser durch die untersuchten Vorgänge im Energiestoffwechsel nicht erklärbar. Es muß offen bleiben, ob eine unbekannte Säure im Stoffwechsel produziert wird, oder ob aufgrund energetischer Insuffizienz auch bei Niedrigwasser ein Bicarbonatverlust stattfindet, wie für die Veränderungen bei Anaerobiose im freien Wasser diskutiert wurde (s. S. 350). Das Wasservolumen, welches die Tiere umgibt, ist jedoch bei Niedrigwasser sehr gering.

Die starke Konzentrationsabnahme des Phospho-L-Arginins und die Freisetzung von Ammoniak durch Tätigkeit der AMP-Desaminase lassen vermuten, daß die gefundene Produktion von Octopin, Succinat, Propionat und Acetat eine geringe Auswirkung auf den Säure-Basen-Haushalt hat. Phospho-L-Arginin nimmt bei seiner Spaltung mindestens 0,23 mol H^+/mol auf. Dieser Wert gilt, wenn der pH_i bei konstant 7,34 gehalten wird. Bei abnehmendem pH_i vergrößert sich die genannte Protonenaufnahme. Insgesamt werden also mindestens 4,2 µmol H^+/g FG des Hautmuskelschlauches durch Spaltung des Phosphagens aufgenommen. 2,59 µmol H^+/g FG werden in den ersten 3 h des Niedrigwassers bei der Freisetzung

von NH_3 aus dem AMP verbraucht, so daß insgesamt ein Minimalverbrauch von 6,79 µmol H^+/g FG resultiert. Dem steht in den ersten 3 h eine theoretische H^+-Produktion durch saure Metabolite und ATP/ADP von 5,4 µmol/g FG gegenüber, so daß diesen Berechnungen zufolge sogar eine Alkalose zu erwarten wäre.

Toulmond (1973) untersuchte die Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt des Blutes von *Arenicola marina* bei Niedrigwasser im Biotop. Die dabei gewonnenen Ergebnisse wurden von Pionetti und Toulmond (1980) durch Messung der Konzentrationsänderungen von Acetat und Propionat ergänzt. Sie konnten 50 % der beobachteten metabolischen Acidose durch Acetat und Propionat erklären. Es erscheint allerdings fragwürdig, ob bei isolierter Analyse der Vorgänge in einem Kompartiment eine derartige quantitative Aussage möglich ist. Die Beziehung zwischen den Vorgängen im Intrazellulär- und im Extrazellulärraum wird dabei vollkommen vernachlässigt. Der Gehalt eines Kompartimentes an sauren Metaboliten deutet aufgrund unterschiedlicher Transportkinetiken für H^+ und Metabolite nicht unbedingt auf eine stöchiometrische Belastung mit Protonen hin. Die Belastung kann z.B. in Bezug auf Laktat bei Muskelaktivität größer (Wood et al., 1977; Benadé und Heisler, 1978; Smatresk et al., 1979; Smatresk und Cameron, 1981), gleich (Wood und Randall, 1981) oder geringer (McDonald et al., 1979) sein als aufgrund der gefundenen Konzentrationen zu erwarten gewesen wäre. Bei den vorliegenden Untersuchungen konnte z.B. keine Konzentrationsänderung von Succinat, Propionat und Acetat in der Coelomflüssigkeit gefunden werden, die das gefundene Ausmaß der Acidose erklärt. Zwischen 3 und 12 h Niedrigwasser wurden im Gegenteil Propionat und Acetat metabolisiert. Es wurde also Säure aus der Coelomflüssigkeit entfernt, obwohl die metabolische Acidose beständig zunahm.

Der größte Teil (2/3) des von Toulmond (1973) und Pionetti und Toulmond (1980) bei Niedrigwasser gefundenen pH-Abfalls konnte von den Autoren auf den Anstieg des P_{CO_2} zurückgeführt werden. Eine Analyse der Veränderungen im pH-Bicarbonat-Diagramm führt für *Sipunculus nudus* zu einem ähnlichen Ergebnis. Durchschnittlich 73 % der pH-Abnahme nach 24 h Niedrigwasser sind bei den

großen Tieren auf den Anstieg des P_{CO_2} zurückzuführen. Für die kleinen Tiere ergibt sich ein respiratorischer Anteil an der Abnahme des pH von 57 %.

Im Vergleich zu einer Anaerobiose im freien Wasser muß also neben der frühzeitig einsetzenden metabolischen Acidose auch die unmittelbar beginnende respiratorische Acidose dafür verantwortlich gemacht werden, daß bereits in der ersten Stunde des Niedrigwassers eine pH-Abnahme erfolgt. Die Auswirkungen des P_{CO_2}-Anstieges auf den pH des Intrazellulärraumes sind noch nicht bekannt, da Messungen des pH_i bei Niedrigwasser noch ausstehen. Aus anderen Untersuchungen ist jedoch bekannt, daß Hyperkapnie auch eine Abnahme des pH verursachen kann (Burnell, 1968; Heisler und Piiper, 1972; Strome et al., 1976; Roos und Boron, 1981; Cameron, 1981). Allerdings konnte für das Diaphragma der Ratte gefunden werden, daß der pH_i in einem bestimmten Bereich des pH_e wohl aufgrund aktiven Ionentransportes unabhängig von respiratorischen Änderungen des pH_e ist (Heisler, 1975). Für konkrete Aussagen über eine potentielle Veränderung des pH_i bei Niedrigwasser ist also seine Messung mit Hilfe von DMO unerläßlich.

(b) Grabtätigkeit mit Erholung im Sediment

Muskelaktivität, die mit einer Grabtätigkeit im Sediment verbunden ist, führt bei *Sipunculus nudus* zu einer respiratorisch-metabolischen Acidose, deren quantitatives Ausmaß in Abhängigkeit von der Intensität des Grabens und damit von der geleisteten Arbeit steht. Abb. 94 zeigt in einer Analyse des pH-Bicarbonat-Diagrammes den durchschnittlichen respiratorischen und metabolischen Anteil der insgesamt im Extrazellulärraum kleiner Tiere gefundenen Protonen. Die Auftragung erfolgte für einmaliges Eingraben mit anschließender Erholung in einer Atemhöhle sowie für erschöpfendes Graben mit anschließender Erholung ohne Atemhöhle (Abb. 78, S. 189, und Abb. 80, S. 192). Die an kleinen Tieren erarbeiteten Daten wurden ausgewählt, da bei diesen auch der Energiestoffwechsel untersucht worden war. In beiden Fällen erholten sich die kleinen Tiere im Sand, während große Tiere nach erschöpfendem Graben keine Erholungsbe-

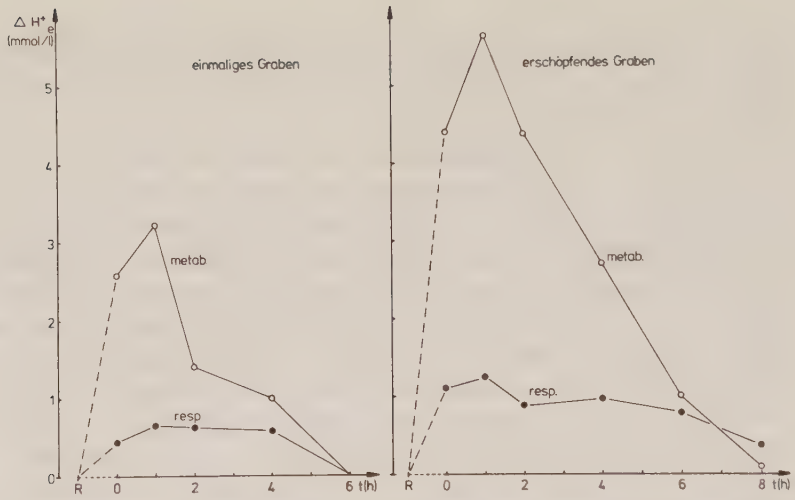


Abb. 94: Änderungen im Protonenhaushalt der Coelomflüssigkeit (ΔH_e^+)kleiner Tiere während einmaliger (links) bzw. erschöpfender Grabtätigkeit (rechts) und anschließender Erholung im Sand (quantitative Analyse der pH-Bicarbonat-Diagramme Abb. 78, S. 189, bzw. 80, S. 192). Angegeben sind die metabolisch (metab.) und respiratorisch (resp.) bedingten Änderungen. R: Ruhewert, 0 h: Ende der Grabtätigkeit, Zeitpunkt 0 der Erholung.

reitschaft im Sand zeigten. Bei einmaligem Eingraben und anschließender Erholung im Sand zeigten große Tiere prinzipielle Übereinstimmung mit dem Verlauf der Veränderungen in Abb. 78, S. 189, wenn man den etwas unregelmäßigen Erholungsverlauf vernachlässigt (s. Abb. 77, S. 189). Ein wesentlicher Unterschied liegt darin, daß bei den großen Tieren in der ersten halben Stunde der Erholung nur eine Fortsetzung des respiratorischen Anteils der Acidose feststellbar war. Die scheinbare, kurzfristige Fortsetzung der metabolischen Acidose bei kleinen Tieren ist demnach wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die nach einer Stunde Erholung aufgearbeiteten Tiere durchschnittlich ein höheres Maß an Arbeit geleistet hatten als die Tiere, die nach Beendigung des Grabens aufgearbeitet worden waren (s. Tab. 18, S. 134). Dies wurde auch für die scheinbare Fortsetzung der Octopinbildung während der ersten Stunde nach Fertigstellung der Atemhöhle diskutiert (s. Abb. 48, S. 136).

Während der Erholung wird nach einmaliger wie auch nach intensiver Grabtätigkeit zunächst das Ausmaß der metabolischen Acidose reduziert. Erst nach 4-6 h Erholung geht auch die respiratorische Acidose zurück, eine Tatsache, die einen erhöhten Sauerstoffverbrauch nach Aktivität vermuten läßt.

In der Coelomflüssigkeit finden keine Konzentrationsänderungen statt, die das Ausmaß der gefundenen extrazellulären Acidose erklären bzw. die überhaupt eine metabolische Acidose verursachen könnten. Die Succinatkonzentration steigt im Gewebe geringfügig an, in der Coelomflüssigkeit dagegen überhaupt nicht (bei einmaligem Graben) oder ebenfalls nur in geringem Ausmaß (bei erschöpfendem Graben). Fettsäuren werden während 1 h Aktivität nicht gebildet. Octopin als Endprodukt eines funktionsbedingten Anaerobiosestoffwechsels bei *Sipunculus nudus* wird nicht an die Coelomflüssigkeit abgegeben, sondern verbleibt im Muskelgewebe. Die Tatsache, daß in der Coelomflüssigkeit trotzdem eine metabolische Acidose meßbar ist, läßt auf eine große Bedeutung des Extrazellulärraumes im Säure-Basen-Haushalt des ganzen Tieres schließen, eine Tatsache, die bereits auf Seite 342, angesprochen wurde. Diese Befunde unterstützen in extremer Form die Ergebnisse von Benadé und Heisler (1978), denen zufolge Lakat und Protonen unterschiedliche Effluxkinetiken besitzen können. Sie stellen die Überlegungen von Zammit (1978) in Frage, der aus einer eventuell stattfindenden Abgabe undissoziierten Octopins in das Blut von Cephalopoden schloß, daß dort aufgrund der geringen Acidität des Octopins keine metabolische Acidose auftreten könne. Wichtig ist jedoch die im Intrazellulärraum gebildete Menge von Protonen, deren zumindest partielle Abgabe an den Extrazellulärraum ohne gleichzeitige Abgabe von Metaboliten bei *Sipunculus nudus* scheinbar nicht schwierig ist. Da allerdings auch bei Aktivität die Bilanz zwischen Säure-Basen-Haushalt und Energiestoffwechsel nicht ausgeglichen ist (s.u.), muß offenbleiben, ob noch weitere acide Endprodukte synthetisiert werden, die auch in der Coelomflüssigkeit erscheinen.

Untersuchungen über die Vorgänge im Intrazellulärraum stehen bei *Sipunculus nudus* noch aus. Es ist jedoch durch Untersu-

chungen am isolierten Muskel (Herbst und Piontek, 1972; Dawson et al., 1977, 1978, 1980) und am Menschen (Hermansen und Osnes, 1972; Sahlin et al., 1976) bekannt und somit auch für *Sipunculus nudus* zu erwarten, daß Muskelaktivität zu einer Erniedrigung auch des intrazellulären pH führt.

Untersuchungen der Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt octopinbildender oder auch allgemein opinbildender Tiere bei Aktivität wurden bisher kaum durchgeführt. Thompson et al. (1980) fanden im Blut von *Placopecten magellanicus* eine Acidose, die mit einem Anstieg des CO_2-Gehaltes in der Hämolymphe verbunden war. Eine Analyse der Acidose auf metabolische oder respiratorische Veränderungen konnte von den Autoren jedoch aufgrund fehlender Messungen des P_{CO_2} nicht durchgeführt werden, so daß keine Aussagen über den Anteil der Octopinbildung an der extrazellulären Acidose möglich sind. Bei *Sipunculus nudus* ist das Ausmaß der extrazellulären metabolischen Acidose sicherlich größer als bei *Placopecten*, da sich für die Coelomflüssigkeit eine Abnahme des gesamten CO_2-Gehaltes berechnen läßt.

In quantitativer Hinsicht geht bei *Sipunculus nudus* schon die extrazelluläre metabolische Acidose weit über das Maß hinaus, für das der Anstieg der Octopinkonzentration im Gewebe verantwortlich sein könnte, wenn alle Protonen an die Coelomflüssigkeit abgegeben werden. Wenn man den Phosphagenumsatz vernachlässigt, resultiert bei einmaliger Grabtätigkeit aus dem Konzentrationsanstieg des Octopins um 0,49 µmol/g FG eine Ansäuerung der Coelomflüssigkeit um 0,45 mmol H^+/l. Eine H^+-Produktion durch Succinatbildung in Höhe von 0,12 mmol/l kommt vielleicht hinzu. Zum Zeitpunkt der Fertigstellung der Atemhöhle wurde jedoch eine Ansäuerung der Coelomflüssigkeit um 2,57 mmol H^+/l gefunden, von denen sich nur 22 % aus der Succinat- und Octopinbildung erklären lassen. Berücksichtigt man, daß Succinat vielleicht aus dem Aspartat stammt, wird die Diskrepanz noch größer. Die Diskrepanz wird etwas geringer, wenn man für kleine Tiere einen geringeren Pufferwert der Coelomflüssigkeit annimmt, da diese über einen geringeren Hämatokrit verfügen als große Tiere. Die quantitativen Auswirkungen

einer solchen Vernachlässigung sind jedoch gering, da sich in der Berechnung der größte Teil des Basendefizites aus der Abnahme der Bicarbonatkonzentration ergibt. Die qualitativen Schlußfolgerungen sind in keiner Weise betroffen. Dies zeigt sich auch darin, daß bei Berücksichtigung der Hydrolyse des Phospho-L-Arginins eine Alkalisierung der Coelomflüssigkeit um mindestens 0,92 mmol H^+/l zu erwarten wäre.

Eine ähnliche Diskrepanz ergibt sich nach erschöpfender Grabtätigkeit, bei der das quantitative Ausmaß der geleisteten Arbeit um den Faktor 2-2,4 höher lag als nach einmaligem Eingraben. Die Tatsache, daß leistungsabhängig mit 4,39 mmol H^+/l nach Einstellung der Aktivität bzw. 5,63 mmol H^+/l nach 1 h Erholung auch eine um den Faktor 1,7 bis 2,2 höhere extrazelluläre Ansäuerung gefunden wurde, läßt eine Beteiligung des Energiestoffwechsels an der Acidose vermuten. Die Fortsetzung der metabolischen Acidose nach Beendigung des Grabens ist hier zu berücksichtigen, da sie sich bei den Untersuchungen an großen Tieren bestätigt hatte. Auch in diesem Fall erklären Octopin- und Succinatbildung im Gewebe nicht das quantitative Ausmaß des metabolischen Anteils der extrazellulären Acidose (2,30 mmol H^+/l aus der Octopin- und Succinatbildung gegenüber 4,39 mmol/l nach Grabende, 2,04 gegenüber 5,63 mmol/l nach 1 h Erholung). Immerhin sind nach Beendigung der Aktivität 52 % der Ansäuerung aus akkumuliertem Octopin und Succinat erklärbar, wenn man wiederum die Protonenaufnahme aus dem Phosphagenumsatz und die Vorgänge im Intrazellulärraum vernachlässigt. Bezieht man den Phosphagenumsatz ein, so wäre (bei Konstanthaltung des pH_i) eine extrazelluläre Alkalisierung um 1,33 mmol H^+/l zu erwarten.

In den letzten Jahren erschienen mehrere Arbeiten über Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt nach Aktivität, die an Crustaceen (Smatresk et al., 1979; McDonald et al., 1979; Smatresk und Cameron, 1981; Wood und Randall, 1981), Fischen (Piiper et al., 1972; Wood et al., 1977; Heisler, 1980, 1982) und Amphibien (McDonald et al., 1980; Boutilier et al., 1980) durchgeführt wurden und die eine quantitative Analyse der Veränderungen im Blut beinhalten. Ein quantitativer Vergleich

mit Vorgängen im Energiestoffwechsel stützt sich oft allein auf die Messung von Laktat im Blut, wobei die Vorgänge in der Zelle wohl aufgrund methodischer Schwierigkeiten nicht gemessen wurden. Eine Analyse des Phosphagenumsatzes erfolgte ebenfalls nicht, so daß unklar ist, in welchem Umfang bei den untersuchten Tieren Protonen durch die Hydrolyse von Phosphocreatin bzw. Phospho-L-Arginin aufgenommen wurden. Die Phosphagenkonzentration liegt z.B. in der Muskulatur von Crustaceen mit 33 µmol/g FG (Beis und Newsholme, 1975) so hoch, daß bei Aktivität ein bedeutender Einfluß auf den Säure-Basen-Haushalt zu erwarten ist. Der Phosphagenumsatz wurde zwar wie auch die Konzentrationsänderungen anderer Metabolite bei den vorliegenden Untersuchungen berücksichtigt, jedoch wurde dadurch die Diskrepanz zwischen erwarteten und gefundenen Änderungen im Säure-Basen-Haushalt noch größer. Weitere Untersuchungen wie Messungen des pH_i und Messungen des Ionenaustausches während der bei *Sipunculus nudus* relativ langen Aktivitätsphase von ca. 1 h sind notwendig, um die hier geschilderten Untersuchungen zu ergänzen und Aufschluß über das wirkliche Ausmaß und die Ursache der hier beschriebenen Diskrepanz zu erlangen. Die Produktion weiterer saurer Metabolite im Energiestoffwechsel kann als Erklärung für die beobachtete Diskrepanz ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Während der Erholung wird die metabolisch bedingte Ansäuerung rückgängig gemacht. Es fällt auf, daß ein zeitlicher Zusammenhang zwischen der Metabolisierung von Octopin und der Kompensation der metabolisch-respiratorischen Acidose besteht. Da jedoch die Akkumulation der Produkte des anaeroben Stoffwechsels nicht einmal ausreicht, das Ausmaß der metabolischen Acidose in der Coelomflüssigkeit zu erklären, müssen, falls nicht weitere Stoffwechselendprodukte hinzukommen, andere Prozesse herangezogen werden, um den beobachteten Erholungseffekt zu erklären. Es verbleibt wieder der Hinweis auf die Möglichkeit einer Abgabe von Protonen oder einer Bicarbonataufnahme, wie sie auf Seite 353 diskutiert wurde.

4.3.4. Säure-Basen-Haushalt und Regulation des Anaerobiosestoffwechsels

In den vorangegangenen Erörterungen zeigte sich, daß Aktivität und Sauerstoffmangel bei *Sipunculus nudus* nicht nur zu Veränderungen im Energiestoffwechsel, sondern auch im Säure-Basen-Haushalt führen. Damit ist die eingangs geschilderte Fragestellung erneut aufzugreifen, ob Veränderungen des pH_i bei biotopbedingter Anaerobiose einen regulatorischen Einfluß auf den Anaerobiosestoffwechsel haben. Diese Fragestellung ergab sich aus dem geschilderten Problem der Umschaltung des Energiestoffwechsels während einer biotopbedingten Anaerobiose. Es wurde postuliert, daß die Schaltstelle im Stoffwechsel fast aller fakultativen Anaerobier beim Phosphoenolpyruvat (PEP) zu suchen sei. Ein mehr oder weniger großer Unterschied in den pH-Optima der wichtigen Enzyme dieser Schaltstelle, wie er *in vitro* erarbeitet worden war, führte zu der Theorie, daß der intrazelluläre pH eine regulatorische Rolle im Succinatstoffwechsel habe (s. Einl.).

Die Existenz einer PEP-Schaltstelle mußte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen für *Sipunculus nudus* in Frage gestellt werden (s. S.218f.). Das „Malat-Enzym", das bei *Sipunculus nudus* die Rolle der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase übernehmen könnte, zeigt jedoch nach den Untersuchungen von Hochachka und Mustafa (1973) an *Crassostrea gigas* sowie von Hoffmann et al. (1979) an *Tubifex spec.* ebenfalls ein pH-Optimum im sauren Bereich (pH 5,2-5,5 bzw. 6,5-7,2), so daß die eingangs geschilderte Fragestellung nicht ad absurdum geführt ist. Allerdings konnte für *Sipunculus nudus* im Bereich von 6,5-7,5 kein distinktes pH-Optimum gefunden werden.

Die Konzentrationsänderungen wichtiger Metabolite des anaeroben Stoffwechsels zeigen bei *Sipunculus nudus* prinzipiell einen ähnlichen Verlauf wie z.B. bei dem fakultativen Anaerobier *Arenicola marina* (vergl. Schöttler, 1982), für den die Existenz einer PEP-Schaltstelle experimentell wahrscheinlich gemacht werden konnte (Schöttler und Wienhausen, 1981). Wenn die Anhäufung von Metaboliten des Anaerobiosestoffwechsels Störungen des intrazellulären pH verursacht, so muß dies also auch bei *Sipunculus nudus* geschehen.

Für die Analyse der Veränderungen des pH_i wurde die experimentelle Situation einer Anaerobiose im freien Wasser gewählt. Es handelt sich um Bedingungen, die von vielen in der Einleitung genannten Autoren für Untersuchungen zum biotopbedingten Anaerobiosestoffwechsel zugrundegelegt werden. Das gefundene Ausmaß der Veränderungen des pH_i (s. Abb. 83, S. 197) gilt jedoch auch bei Tieren, die sich im Sand befinden und bei Anaerobiose Kontakt mit dem überstehenden Wasser haben, hat also auch Bedeutung für eine der simulierten natürlichen Situationen.

Unter den genannten Bedingungen wurde z.B. an *Arenicola marina* erarbeitet, daß die Umschaltung des Anaerobiosestoffwechsels dann als abgeschlossen anzusehen ist, wenn (nach 6-12 h) kein Aspartat mehr als Substrat metabolisiert wird (vergleiche Schöttler, 1982). Aus diesem Grunde wurde auch für *Sipunculus nudus* das Ende der Metabolisierung von Aspartat als Indikator für den Zeitpunkt angesehen, zu dem die anaerobe Glykolyse auf die Carboxylierungsreaktion umgeschaltet ist. Dies ist nach spätestens 6 h der Fall. Nach der Untersuchung des Anaerobiosestoffwechsels kann die ursprüngliche Fragestellung folgendermaßen modifiziert werden:

- Fällt der intrazelluläre pH während 24 h Anaerobiose ab?
- Fällt er früh und weit genug ab, um den Stoffwechsel innerhalb von 6 h Anaerobiose im freien Wasser auf die Carboxylierungsreaktion umzuschalten?

Das Verhalten des pH_i wurde im Verlauf von 24 h Anaerobiose verfolgt. Während der ersten 12 h der Anaerobiose trat noch keine signifikante Veränderung auf. Anstelle einer Acidose, die nach den Erörterungen von Hochachka und Mustafa (1972), Mustafa und Hochachka (1973b), de Zwaan (1977) und Livingstone (1982) mit dem Beginn der Produktion von Endprodukten des anaeroben Stoffwechsels zu erwarten gewesen wäre, konnte im Hautmuskelschlauch in den ersten Stunden die bereits beschriebene leichte Alkalose beobachtet werden. Da der intrazelluläre und der extrazelluläre pH ein gleichläufiges Verhalten zeigten, bestätigte sich die Richtigkeit dieser Beobachtungen wie beschrieben an großen Tieren (s. Abb. 64,

S. 170). Quantitativ fallen pH_e und pH_i ausgehend vom aeroben Ruhewert während 24 h Anaerobiose um ca. 0,3 bis 0,4 pH-Einheiten ab. Diese Abnahme könnte mit Blick auf Abb. 2 (s. Einl. S. 10) eine Verschiebung zugunsten einer Carboxylierungsreaktion bedeuten. Betrachtet man jedoch den Zeitpunkt, nach dem die pH_i-Abnahme erfolgt und vergleicht ihn mit dem Zeitpunkt, zu dem die Umschaltung des Stoffwechsels laut Metabolisierung von Aspartat abgeschlossen ist, so fällt auf, daß bis zum Einsetzen der Carboxylierungsreaktion keine Acidose, sondern eine Alkalose auftritt und somit eine Umschaltung des Stoffwechsels theoretisch noch zusätzlich behindert wird. Die verzögerte Abnahme des pH_i bzw. die Alkalose zum Zeitpunkt der Umschaltung des Stoffwechsels zeigen, daß dem intrazellulären pH nicht die ausschlaggebende regulatorische Rolle zukommt, die ihm von Hochachka und Mustafa (1972) und eingeschränkt auch noch von de Zwaan (1977) sowie Livingstone (1982) zugewiesen wurde. Diese Aussage gilt, obwohl für *Sipunculus nudus* in Frage gestellt werden muß, daß die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase an der Carboxylierungsreaktion beteiligt ist.

Die genannte Aussage wird durch die Untersuchungen von Barrow et al. (1980) an isolierter Muskulatur von *Tapes watlingi* gestützt. Betrachtet man die Zeitabhängigkeit des $^{31}P_{NMR}$-Spektrums in der dortigen Abb. 3, so läßt sich aus der Verschiebung der Position des Signals für anorganisches Phosphat ablesen, daß während der ersten 10 h der Anaerobiose keine Abnahme des pH_i erfolgt. Erst in der Zeit von 10 bis 22 h nimmt der pH_i auf den von Barrow et al. geschilderten Wert von 6,8 ab. Das ΔpH_i entspricht mit 0,4 Einheiten etwa dem Ausmaß der an *Sipunculus nudus* erarbeiteten Veränderungen.

Nach diesen Erörterungen richtet sich das Augenmerk auf andere regulatorische Parameter für die PEP-Schaltstelle, von denen die erst kürzlich erarbeitete Phosphorylierung der Pyruvatkinase bei *Mytilus edulis* (Siebenaller, 1979; Holwerda et al., 1981a) als besonders wesentlich erscheint. Nach Holwerda et al. erhöht sich durch die Phosphorylierung der Pyruvatkinase die Michaeliskonstante für Phosphoenolpyruvat. Die Inhibitorkonstante für Alanin nimmt ab, so daß *in vivo* die Gesamtaktivität der Pyruvatkinase abnimmt. Wenn bei *Mytilus edulis*

c-AMP oder c-GMP ein regulatorisches Signal für die Phosphorylierung der Pyruvatkinase liefern, so wäre eine Umschaltung den Konzentrationsänderungen der beiden Nukleotide zufolge in den ersten Stunden der Anaerobiose möglich. Allerdings muß ein Zusammenhang zwischen c-AMP oder c-GMP und der Pyruvatkinase-Phosphorylierung noch bewiesen werden (Holwerda et al., 1981a).

Die bisherigen Ausführungen zeigen, daß eine Abnahme des pH_i keine notwendige Voraussetzung für die Umschaltung des Stoffwechsels in Richtung auf eine Carboxylierungsreaktion darstellt. Dies bedeutet jedoch nicht, daß eine schließlich doch stattfindende Abnahme des pH_i keinen regulatorischen Einfluß auf den Energiestoffwechsel hat. Es ist durchaus denkbar, daß der pH_i die anderen regulatorischen Parameter unterstützt, zumal die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase anscheinend nur durch eine Abnahme des pH stimuliert werden kann (Wijsman, 1976; Holwerda et al., 1981a). Da eine Anaerobiose unter natürlichen Bedingungen oftmals mit einer Einschränkung des Gasaustausches verbunden ist, tritt unter diesen Bedingungen eine Akkumulation von CO_2 auf, die zu einer frühzeitigen Abnahme des pH_i führen könnte (interne Hyperkapnie, s. S. 355). In diesem Sinne sind auch die Befunde von Wijsman (1975) an *Mytilus edulis* zu verstehen, der bei Tieren, die sich an der Luft befanden, eine frühzeitige Abnahme des pH im Gewebe und in der Extrapallialflüssigkeit fand. Bei Anaerobiose im Wasser konnte Wijsman dagegen keine so deutliche pH-Abnahme finden. Die von Wijsman angewandte Methodik der pH-Messung im Gewebe ist allerdings abzulehnen, da sie durch Verwundung und Manipulation der Tiere unkontrollierbare Effekte auf den pH beinhaltet.

Es stellt sich jedoch die Frage, ob die anaerobiosebedingte Hyperkapnie tatsächlich über die Absenkung des pH auf den Stoffwechsel wirkt oder über die Erhöhung des CO_2-Gehaltes in der Zelle. Bei simuliertem Niedrigwasser fand in der Coelomflüssigkeit eine solche Zunahme des CO_2-Gehaltes nur in geringfügigem Ausmaß statt. In den ersten Stunden stieg der P_{CO_2} an, während die Bicarbonatkonzentration konstant blieb (s. Abb. 73, S. 184; 75, S. 186). Die Erhöhung des CO_2-Gehaltes, die z.B. ein Anstieg des P_{CO_2} um 1 Torr bei gleichbleibender Bicarbonat-

konzentration bewirkt, liegt auch intrazellulär unter 10 %. Ein stärkerer Anstieg des P_{CO_2} wurde in den ersten 3 Stunden des Niedrigwassers, in denen die Umschaltung des Stoffwechsels erfolgt, nicht gefunden.

Der aerobe Ruhegehalt im Sand liegender Tiere an Bicarbonat ist jedoch höher als der Bicarbonat-Gehalt von Tieren, die sich im Wasser befinden. In der Coelomflüssigkeit ergibt sich ein Unterschied von 3,6 mmol/l (10,7 gegenüber 7,1 mmol/l), in der Zelle ein Unterschied von 1,43 mmol/l (2,14 gegenüber 0,71 mmol/l). In der Zelle sind die Werte also immerhin um den Faktor 3 unterschiedlich. Da für die Situation des Niedrigwassers diskutiert wurde, ob die Umschaltung des Energiestoffwechsels bereits nach 2-3 h erfolgt ist (s. S. 321), resultiert die Frage, ob hier ein Zusammenhang besteht. Es ist denkbar, daß die starke energetische Beanspruchung und das hohe Angebot an CO_2 für die Carboxylierungsreaktion im Verein mit einer Abnahme des pH_i eine rasche Umschaltung des Energiestoffwechsels während des Niedrigwassers begünstigt. Eine wichtige Rolle der CO_2-Konzentration bei der Umschaltung wird auch von Hoffmann et al. (1979) aufgrund von *in-vitro*-Untersuchungen an Pyruvatkinase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase diskutiert.

Neben einer begrenzten Funktion bei der Umschaltung des anaeroben Stoffwechsels sind noch weitere Einflüsse des pH_i auf den Energiestoffwechsel zu diskutieren. Es ist z.B. bekannt, daß eine Absenkung des pH die Glykolyse hemmt und so eine weitere Anhäufung saurer Metabolite wie z.B. Laktat, Pyruvat u.a. verhindert. Auf diese Weise trägt der Stoffwechsel zu einer Regulation des intrazellulären pH bei (Siesjö, 1973; Cohen und Iles, 1975; Roos und Boron, 1981). Von der pH-Änderung sind die regulatorisch wichtigsten Enzyme der Glykolyse wie Phosphorylase und Phosphofructokinase betroffen (Danforth, 1965; Trivedi und Danforth, 1966). Auf dieser Grundlage stellt sich z.B. die Frage, ob der nach 12 h Anaerobiose im freien Wasser schließlich doch abfallende pH_i zur Reduktion der Stoffwechselrate beiträgt, zumal ein zeitlicher Zusammenhang zwischen beiden Prozessen besteht. Fraglich ist auch, ob die akkumulierten Endprodukte selbst eine Hemmwirkung auf die Stoffwechselrate

haben können, ähnlich wie z.B. Laktat im ischämischen Herz durch Hemmung der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase eine weitere Laktatakkumulation verhindert (Rovetto et al., 1975). Ein Zusammenhang zwischen Acidose und Erschöpfung bei Muskelaktivität wurde von Fitts und Holloszy (1976) vermutet.

Hier zeigt sich wie auch in allen anderen Kapiteln der vorangegangenen Diskussion, daß der Stoffwechsel ohne Sauerstoff, wie er bei *Sipunculus nudus* in Anpassung an das Leben im marinen Sediment gefunden wird, vor allem im Hinblick auf seine Regulation noch einer intensiven experimentellen Bearbeitung bedarf. Dringende Fragen, deren Klärung auch für *Sipunculus nudus* Ziel der nächsten Jahre sein muß, sind: die Frage nach der Schaltstelle im anaeroben Stoffwechsel, die Frage nach der Redoxregulation im Stoffwechsel, die Frage nach unbekannten Stoffwechselendprodukten, die Frage nach einer anaeroben Lipidbiosynthese, die Frage nach der Beziehung zwischen Arbeit, Energiestoffwechsel und Ermüdung, die Frage nach Funktion und Ursache einer möglichen Octopinbildung bei der Erholung von einer biotop- und funktionsbedingten Anaerobiose, die Frage nach einer Sauerstoffschuld, die Frage nach der Wirkung des P_{CO_2} auf die Stoffwechselrate, die Frage nach der Regulation des Sauerstoffverbrauches im Sand, die Frage nach weiteren Ursachen für anaerobiosebedingte Änderungen im Säure-Basen-Haushalt, die Frage nach der Regulation des Säure-Basen-Haushaltes, die Frage nach der Veränderung des pH_i bei Niedrigwasser und bei Aktivität, die Frage nach der regulatorischen Rolle des CO_2 im anaeroben Stoffwechsel, die FRAGE .....

5. Zusammenfassung

Der Energiestoffwechsel des *Sipunculus nudus* wurde während langfristiger Hypoxie (biotopbedingte Anaerobiose) und motorischer Aktivität (funktionsbedingte Anaerobiose) untersucht. Unter denselben Bedingungen wurde der Säure-Basen-Haushalt der Muskelzelle (bei biotopbedingter Anaerobiose) und der Coelomflüssigkeit (bei biotopbedingter und funktionsbedingter Anaerobiose) analysiert. Weiterhin wurde der Einfluß des äußeren P_{O_2} auf den Modus der Energiegewinnung untersucht. Eine Betrachtung der Eigenschaften des Atempigmentes Haemerythrin schloß sich an. P_{O_2}-Messungen im Coelom sollten einen Hinweis auf die respiratorische Bedeutung des Haemerythrins geben.

Die Untersuchungen wurden auf Situationen des Sauerstoffmangels ausgedehnt, die im Biotop denkbar sind und daher im Experiment simuliert wurden. Unter diesen Bedingungen wurden Veränderungen im Energiestoffwechsel und Veränderungen von P_{O_2}, P_{CO_2}, pH und Bicarbonatkonzentration in der Coelomflüssigkeit verfolgt:

1. *Sipunculus nudus* verfügt über zwei verschiedene Formen der anaeroben Glykogenolyse, nämlich die Succinat-, Propionat-Gärung und die anaerobe Glykolyse (Embden-Meyerhof-Weg), deren Nutzung von der Dauer des Sauerstoffmangels und vom Energiebedarf abhängt. Das Phosphagen ist bei Sauerstoffmangel prinzipiell der funktionell primäre Energielieferant.

a) Langfristiger Sauerstoffmangel unter Ruhebedingungen (biotopbedingte Anaerobiose) führt nach einem anfänglichen Pasteur-Effekt zu einer Reduktion der Glykogenolyserate, einer Reduktion des Energiebedarfes und einer Abnahme der CO_2-Produktion. Octopin wird in wesentlichem Ausmaß nur in der ersten Zeit der Anaerobiose, also bei hohem Energiebedarf gebildet. Succinat, Propionat und Acetat sind die dominierenden Anaerobioseprodukte.

Eine Aktivität der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase ist *in vitro* nicht eindeutig nachweisbar. Das „Malat-Enzym" liegt in sehr viel höheren Konzentrationen als die Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase vor. Es ist möglich, daß bei Anaerobiose Pyruvat anstelle von Phosphoenolpyruvat carboxyliert wird.

Sauerstoffmangel führt bei *Sipunculus nudus* zu Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt. In den ersten 12 h einer Anaerobiose (im freien Wasser) tritt nicht die erwartete Acidose, sondern eine metabolisch und respiratorisch bedingte Alkalose auf, die auf die Abgabe von CO_2 und wahrscheinlich auf den Abbau von Phospho-L-Arginin zurückzuführen ist. Eine metabolisch bedingte Acidose läßt sich sowohl in der Coelomflüssigkeit als auch in der Zelle erst nach 12 h beobachten. Demnach kann der pH_i nicht als regulatorisches Stellglied für die bereits nach 6 h erfolgende Umschaltung des Stoffwechsels zur Carboxylierungsreaktion in der Succinat-Propionatgärung angesehen werden.

Die für das Ausmaß der metabolischen Acidose verantwortlichen Protonenmenge ist höher als aus den Veränderungen im Energiestoffwechsel berechnet werden kann. Als Ursache ist denkbar, daß eine energetische Insuffizienz zu einem Verlust von Basenäquivalenten (Bicarbonat) an das umgebende Wasser bzw. einer Aufnahme von Protonen aus dem umgebenden Wasser führt. Eine unausgeglichene Redoxbalance und die geschilderte Acidifizierung lassen jedoch auch das Auftreten weiterer Metabolite möglich erscheinen.

b) Kurzfristiger hoher Energiebedarf während motorischer Aktivität führt zu einem raschen Abbau von Phospho-L-Arginin, dessen Umsatz der verrichteten Arbeit (gemessen als Druck x Zeit-Integral) proportional ist. Die Steigerung des Glykogenolyseflusses führt zu einer Akkumulation von Octopin, das vor allem bei umfangreicher Arbeit vermehrt synthetisiert wird. Die Bildungs-

rate von Octopin ist aber immer geringer als der aufgrund der maximalen Phosphorylaseaktivität geschätzte Metabolitfluß des Embden-Meyerhof-Weges. Außerdem kann das Ausmaß der metabolischen Acidose in der Coelomflüssigkeit durch die Octopinbildung nicht erklärt werden. Die Synthese weiterer Opine, die bislang nicht nachgewiesen werden konnte, scheint deshalb möglich.

2. Der Hautmuskelschlauch des *Sipunculus nudus*, das Gewebe, welches bei anaerober Aktivität den größten Teil der verrichteten Arbeit trägt, besitzt eine höhere Kapazität der anaeroben Energiegewinnung aus dem Phosphagen und der Glykogenolyse (Octopinbildung) als die Retraktoren. Entsprechend wird im Hautmuskelschlauch mehr Octopin akkumuliert und mehr Phosphagen abgebaut. Das Ausmaß der Succinat-, Propionat- und Acetatgärung in beiden Geweben scheint bei biotopbedingter Anaerobiose gleich. Der höhere Gehalt an Argininkinase in den Retraktoren weist auf die größere Bedeutung des Phosphagens wohl in Zusammenhang mit einer besseren Reaktionsfähigkeit dieses Gewebes hin.

   Der Mitochondriengehalt ist in den äußeren Bereichen des Hautmuskelschlauches, wahrscheinlich in der Cutis am größten. Die O_2-Versorgung dieses Gewebes erfolgt also hauptsächlich über das Atemmedium Wasser, während die Coelomflüssigkeit in erster Linie die inneren Gewebe mit Sauerstoff versorgt.

3. Der Energiebedarf des *Sipunculus nudus* ist von der Sauerstoffversorgung abhängig. Der O_2-Verbrauch nimmt bis zu einem kritischen P_{O_2} (P_c) linear mit dem O_2-Partialdruck im Atemwasser ab. Unterhalb des P_c werden zunächst die inneren Gewebe unzureichend mit Sauerstoff versorgt; parallel einer zunehmenden Beteiligung der Succinat-, Propionat- und Acetatgärung, auch im Hautmuskelschlauch, nimmt der Sauerstoffverbrauch jetzt nicht mehr linear, sondern hyperbelförmig in Richtung

auf den Nullwert ab. Der P_c ist von den Diffusionsverhältnissen im Tier und damit von der Körpergröße abhängig.

4. *Sipunculus nudus* liegt unter Ruhebedingungen horizontal im Sand und versorgt sich über eine Atemhöhle am Vorderende seines Körpers mit sauerstoffreichem Wasser, das er mit Hilfe peristaltischer Kontraktionen des Hautmuskelschlauches in die Atemhöhle zieht, entlang der Körperoberfläche transportiert und schließlich in den Sand drückt. Das eintransportierte Wasservolumen steigt mit zunehmender Körpergröße an, die notwendige Leistung und der Sauerstoffverbrauch pro Gewichtseinheit nehmen ab.

a) Das Haemerythrin des *Sipunculus nudus* hat insbesondere in Sauerstoffmangelsituationen die Funktion, einen zumindest partiell aeroben Energiestoffwechsel aufrechtzuerhalten. Kooperative Effekte liegen nicht vor, der P_{50} ist mit 2,8 Torr bei 15° C (*in vivo*) vergleichsweise niedrig. Unter Ruhebedingungen im Sand liegt der P_{O_2} im Coelom mit 18 Torr so hoch, daß das Haemerythrin keine wesentliche Transportfunktion haben kann. In Sauerstoffmangelsituationen wie Hypoxie, Niedrigwasser und Grabtätigkeit im Sand nimmt der P_{O_2} im Coelom ab. Eine Speicherfunktion liegt sicherlich vor, eine Transportfunktion aus den Coelomkanälen zu den inneren Geweben kann bei vorhandenem äußerem Sauerstoff nicht ausgeschlossen werden.

b) Im Sediment graben die Tiere in Abhängigkeit vom Grad der Erschöpfung bis zur Fertigstellung einer Atemhöhle oder soweit, bis sie nur noch mit dem Hinterende Kontakt zum überstehenden Wasser haben. In beiden Positionen erholen sich die Tiere innerhalb von 6 - 8 h, d. h. aktivitätsbedingte Veränderungen wie Abnahme des P_{O_2}, metabolisch und respiratorisch bedingte Acidose, Akkumulation von Octopin, Abbau des Phosphagens werden in

dieser Zeit rückgängig gemacht.

c) Tiere, die im Sand liegend mit einer Hypoxie im Atemwasser konfrontiert werden, zeigen Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt, die in ihrem Verlauf mit denen vergleichbar sind, die bei im Wasser liegenden Tieren gefunden werden. Die Fettsäuren Acetat und Propionat werden jedoch bei Tieren im Sand in höherem Ausmaß in der Coelomflüssigkeit akkumuliert.

Tiere, deren Atemhöhle mit Sand verschüttet wird, reagieren mit befreiender Grabtätigkeit. Während 9 h werden Succinat, Acetat und Propionat in der Coelomflüssigkeit akkumuliert.

Tiere, denen (im Sand liegend) das Atemwasser entzogen wird (Niedrigwasser), zeigen eine Akkumulation von Succinat, Propionat, Acetat und Octopin, die beim Propionat und Acetat vorübergehend ist. Der Adenylatgehalt nimmt wie der Gehalt an Phospho-L-Arginin rasch ab, ohne daß der Energieinhalt langfristig stark abfällt. Nach einer Zeit anfänglich hohen Energiebedarfes sind die Tiere anscheinend in der Lage, ihren Energiebedarf so zu drosseln, daß der verfügbare Sauerstoff zur Deckung des Bedarfes ausreicht.

Bei Niedrigwasser setzt in der Coelomflüssigkeit unmittelbar eine metabolisch und respiratorisch bedingte Acidose ein. Der respiratorische Anteil der Acidose zeigt ein Sättigungsverhalten, das offensichtlich von der Möglichkeit der CO_2-Abgabe abhängt. Die metabolisch bedingte Protonenproduktion setzt sich während 24 h Niedrigwasser kontinuierlich fort und steht damit im Widerspruch zu den beobachteten Veränderungen der Metabolitkonzentrationen. Die Ursache hierfür ist noch nicht geklärt. Unbekannte Vorgänge im Energiestoffwechsel sind denkbar.

6. Literaturverzeichnis

Addanki, S., F.D. Cahill, J.F. Sotos (1968): Determination of intramitochondrial pH and intramitochondrial-extramitochondrial pH gradient of isolated heart mitochondria by the use of 5,5-dimethyl-2,4-oxazolidinedione. J. biol. Chem. 243, 2337-2348.

Adler, S. (1972): The simultaneous determination of muscle cell pH using a weak acid and weak base. J. clin. Invest. 51, 256-265.

Albers, C. (1970): Acid-base balance. In: W.S. Hoar, D.J. Randall (Hrsg.): Fish physiology IV. The nervous system, circulation and respiration, Academic Press, New York, 173-208.

Alp, P.R., E.A. Newsholme, V.A. Zammit (1976): Activities of citrate synthase and NAD^+-linked and $NADP^+$-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. Biochem. J. 154, 689-700.

Ambrosoli, G., P. Cerretelli (1973): The anaerobic recovery of frog muscle. Pflügers Arch. 345, 131-143.

Atkinson, D.E. (1968): The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. Biochemistry 7, 4030-4034.

Atkinson, D.E. (1977): Cellular energy metabolism and its regulation. Academic Press, New York.

Atkinson, D.E., G.M. Walton (1967): Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. J. biol. Chem. 242, 3239-3241.

Baldwin, J., A.K. Lee (1979): Contributions of aerobic and anaerobic energy production during swimming in the bivalve mollusc *Limaria fragilis* (Family Limidae). J. comp. Physiol. 129, 361-364.

Baldwin, J., A.K. Lee, W.R. England (1981): The functions of octopine dehydrogenase and D-lactate dehydrogenase in the pedal retractor muscle of the dog whelk *Nassarius coronatus* (Gastropoda: Nassariidae). Mar. Biol. 62, 235-238.

Baldwin, J., A.M. Opie (1978): On the role of octopine dehydrogenase in the adductor muscles of bivalve molluscs. Comp. Biochem. Physiol. 61B, 85-92.

Ballantyne, J.S., P.W. Hochachka, T.P. Mommsen (1981): Studies on the metabolism of the migratory squid *Loligo opalescens:* Enzymes of tissues and heart mitochondria. Mar. Biol. Lett. 2, 75-85.

Baltzer, F. (1931): Sipunculida. In: W. Kükenthal, T. Krumbach (Hrsg.): Handbuch der Zoologie Bd. II, de Gruyter, Berlin.

Bang, B.G., F.B. Bang (1965): Mucus hypersecretion in a normally isolated non-innervated cell. Cah. Biol. mar. 6, 257-264.

Barrow, K.D., D.D. Jamieson, R.S. Norton (1980): ^{31}P nuclear-magnetic-resonance studies of energy metabolism in tissue from the marine invertebrate *Tapes watlingi*. Eur. J. Biochem. 103, 289-297.

Bass, A., D. Brdiczka, P. Eyer, S. Hofer, D. Pette (1969): Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. Eur. J. Biochem. 10, 198-206.

Bates, G., M. Brunori, G. Amiconi, E. Antonini, J. Wyman (1968): Studies on Hemerythrin. I. Thermodynamic and kinetic aspects of oxygen binding. Biochemistry 7, 3016-3020.

Bayne, B.L. (1971): Oxygen consumption by three species of lamellibranch mollusc in declining ambient oxygen tension. Comp. Biochem. Physiol. 40A, 955-970.

Bayne, B.L., C.J. Bayne, T.C. Carefoot, R.J. Thompson (1976): The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad. 1. Metabolism and energy balance. Oecologia (Berl.) 22, 211-228.

Bayne, B.L., D.R. Livingstone (1977): Responses of *Mytilus edulis* L. to low oxygen tension: Acclimation of the rate of oxygen consumption. J. comp. Physiol. 114, 129-142.

Beis, J., E.A. Newsholme (1975): The contents of adenine nucleotides, phosphagens and some glycolytic intermediates in resting muscles from vertebrates and invertebrates. Biochem. J. 152, 23-32.

Benadé, A.J.S., N. Heisler (1978): Comparison of efflux rates of hydrogen and lactate ions from isolated muscles *in vitro*. Respir. Physiol. 32, 369-380.

Bergmeyer, H.U., E. Bernt, H. Möllering, G. Pfleiderer (1974a): L-Aspartat und L-Asparagin. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 1741-1745. Verlag Chemie, Weinheim.

Bergmeyer, H.U., K. Gawehn, M. Graßl (1974b): Enzyme als biochemische Reagenzien: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 1, S. 495-496. Verlag Chemie, Weinheim.

Bessman, S.P., W.C.T. Yang, P.J. Geyer, S. Erickson-Viitanen (1980): Intimate coupling of creatine phosphokinase and myofibrillar adenosine triphosphatase. Biochem. biophys. Res. Commun. 96, 1414-1420.

Boehringer Mannheim GmbH (1980): Bernsteinsäure (Succinat). UV-Test zur Bestimmung von Bernsteinsäure in Lebensmitteln. In: Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik. Boehringer, Mannheim.

Boeri, E., A. Ghiretti-Magaldi (1957): The properties of hemerythrin. Biochim. biophys. Acta 23, 489-493.

Boron, W.F. (1978): Active control of intracellular pH. Respir. Physiol. 33, 59-62.

Boron, W.F. (1980): Intracellular pH regulation. Curr. Top. Membr. Transp. 13, 3-22.

Boron, W.F., A. Roos (1976): Comparison of microelectrode, DMO, and methylamine methods for measuring intracellular pH. Am. J. Physiol. 231, 799-809.

Boron, W.F., P. de Weer (1976): Intracellular pH transients in squid giant axons caused by CO_2, NH_3 and metabolic inhibitors. J. gen. Physiol. 67, 91-112.

Bossa, F., M. Brunori, G.W. Bates, E. Antonini, P. Fasella (1970): Studies on hemerythrin. II. Circular dichroism and optical rotatory dispersion of hemerythrin from *Sipunculus nudus*. Biochim. biophys. Acta 207, 41-48.

Boutilier, R.G., D.G. McDonald, D.P. Toews (1980): The effects of enforced activity on ventilation, circulation and blood acid-base balance in the aquatic gill-less urodele, *Cryptobranchus alleganiensis;* a comparison with the semi-terrestrial anuran, *Bufo marinus*. J. exp. Biol. 84, 289-302.

Boutilier, R.G., D.J. Randall, G. Shelton, D.P. Toews (1979): Acid-base relationships in the blood of the toad, *Bufo marinus*. III. The effects of burrowing. J. exp. Biol. 82, 357-365.

Boutilier, R.G., G. Shelton (1980): The statistical treatment of hydrogen ion concentration and pH. J. exp. Biol. 84, 335-339.

Bowlus, R.D., G.N. Somero (1979): Solute compatibility with enzyme function and structure: rationales for the selection of osmotic agents and end-products of anaerobic metabolism in marine invertebrates. J. exp. Zool. 208, 137-152.

Brafield, A.E. (1978): Life in sandy shores. Studies in Biology No. 89. Edw. Arnold, London.

Brand, T. von, P. McMahon, M.O. Nolan (1955): Observations on the postanaerobic metabolism of some fresh-water snails. Physiol. Zool. 28, 35-40.

Brdiczka, D., D. Pette, G. Brunner, F. Miller (1968): Kompartimentierte Verteilung von Enzymen in Rattenlebermitochondrien. Europ. J. Biochem. 5, 294-304.

Bridges, C.R., J.E.P.W. Bicudo, G. Lykkeboe (1979): Oxygen content measurement in blood containing hemocyanin. Comp. Biochem. Physiol. 62A, 457-462.

Brinkhoff, W. (1981): Untersuchungen über das natürliche Auftreten eines anaeroben Stoffwechsels bei Muscheln der Gezeitenzone. Staatsarbeit, Münster.

Burggren, W.W., J.N. Cameron (1980): Anaerobic metabolism, gas exchange and acid-base balance during hypoxic exposure in the channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. exp. Zool. 213, 405-416.

Burnell, J.M. (1968): *In vivo* response of muscle to changes in CO_2 tension or extracellular bicarbonate. Am. J. Physiol. 215, 1376-1383.

Burt, C.T., S.M. Cohen, M. Barany (1979): Analysis of intact tissue with ^{31}P NMR. A. Rev. Biophys. Bioeng. 8, 1-25.

Burt, C.T., T. Glonek, M. Barany (1976): Analysis of phosphate metabolites, the intracellular pH, and the state of adenosine triphosphate in intact muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance. J. biol. Chem. 251, 2584-2591.

Burton, R.F. (1978): Intracellular buffering. Respir. Physiol. 33, 51-58.

Burton, R.F. (1980): Adenosine triphosphate as a determinant of magnesium levels in cytoplasm. Comp. Biochem. Physiol. 65A, 1-4.

Caldwell, P.C. (1956): Intracellular pH. Int. Rev. Cytol. 5, 229-277.

Cameron, J.N. (1971): Rapid method for determination of total carbon dioxide in small blood samples. J. appl. Physiol. 31, 632-634.

Cameron, J.N. (1978): Regulation of blood pH in teleost fish. Respir. Physiol. 33, 129-144.

Cameron, J.N. (1979): Excretion of CO_2 in water-breathing animals - a short review. Mar. Biol. Lett. 1, 3-13.

Cameron, J.N. (1981): Acid-base responses to changes in CO_2 in two pacific crabs: the coconut crab, *Birgus latro* and a mangrove crab, *Cardisoma carnifex*. J. exp. Zool. 218,65-73.

Castellini, M.A., G.N. Somero (1981): Buffering capacity of vertebrate muscle: Correlations with potentials for anaerobic function. J. comp. Physiol. 143, 191-198.

Chapman, G. (1950): Of the movement of worms. J. exp. Biol. 27, 29-39.

Chapman, G. (1958): The hydrostatic skeleton of the invertebrates. Biol. Rev. 33, 338-371.

Clancy, R.L., E.B. Brown jr. (1966): *In vivo* CO_2 buffer curves of skeletal and cardiac muscle. Am. J. Physiol. 211, 1309-1312.

Clark, M.E. (1964): Biochemical studies on the coelomic fluid of *Nephtys hombergi* (Polychaeta: Nephtyidae) with observations on changes during different physiological states. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 127, 63-84.

Cohen, R.P., R.A. Iles (1975): Intracellular pH: measurement, control and metabolic interrelationships. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 6, 101-143.

Cohen, S.M., S. Ogawa, H. Rottenberg, P. Glynn, T. Yamane, T. Brown, R.G. Shulman, J.R. Williamson (1978): ^{31}P nuclear magnetic resonance studies of isolated rat liver cells. Nature, Lond. 273, 554-555.

Collicutt, J.M., P.W. Hochachka (1977): The anaerobic oyster heart: coupling of glucose and aspartate fermentation. J. comp. Physiol. 115, 147-157.

Cooper, T.G., T.T. Tchen, H.G. Wood, C.R. Benedict (1968): The carboxylation of phosphoenolpyruvate and pyruvate. I. The active species of „CO_2" utilized by phosphoenolpyruvate carboxykinase, carboxytransphosphorylase and pyruvate carboxylase. J. biol. Chem. 243, 3857-3863.

Crenshaw, M.A., J.M. Neff (1969): Decalcification at the mantle-shell interface in molluscs. Am. Zool. 9, 881-889.

Crush, K.G. (1970): Carnosine and related substances in animal tissues. Comp. Biochem. Physiol. 34, 3-30.

Curtin, N.A., R.C. Woledge (1978): Energy changes and muscular contraction. Physiol. Rev. 58, 690-761.

Curtin, N.A., R.C. Woledge (1979): Chemical change and energy production during contraction of frog muscle: How are their time courses related? J. Physiol., Lond. 288, 353-366.

Danforth, W.H. (1965): Activation of glycolytic pathway in muscle. In: B. Chance, R.W. Estabrook, J.B. Williamson (Hrsg.): Control of energy metabolism, S. 287-297. Academic Press, New York.

Davenport, H.W. (1974): The ABC of acid-base chemistry. The University of Chicago Press, 6. Aufl., Chicago.

Davey, C.L. (1960): The significance of carnosine and anserine in striated skeletal muscle. Arch. Biochem. Biophys. 89, 303-308.

Davis, R.P. (1967): Logland: A gibbsian view of acid-base-balance. Am. J. Med. 42, 159-162.

Davuluri, S.P., F.J.R. Hird, R.M. McLean (1981): A re-appraisal of the function and synthesis of phosphoarginine and phosphocreatine in muscle. Comp. Biochem. Physiol. 69B, 329-336.

Dawson, M.J., D.G. Gadian, D.R. Wilkie (1977): Contraction and recovery of living muscles studied by ^{31}P nuclear magnetic resonance. J. Physiol., Lond. 267, 703-735.

Dawson, M.J., D.G. Gadian, D.R. Wilkie (1978): Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance. Nature, Lond. 274, 861-866.

Dawson, M.J., D.G. Gadian, D.R. Wilkie (1980): Mechanical relaxation rate and metabolism studied in fatiguing muscle by phosphorus nuclear magnetic resonance. J. Physiol., Lond. 299, 465-484.

Dejours, P. (1975): Principles of comparative respiratory physiology. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

Driedzic, W.R., G. McGuire, M. Hatheway (1981): Metabolic alterations associated with increased energy demand in fish white muscle. J. comp. Physiol. 141, 452-432.

Dye, A.H. (1981): A study of benthic oxygen consumption on exposed sandy beaches. Estuar. Coast. Shelf Sci. 13, 671-680.

Ebberink, R.H.M., D.R. Livingstone, R.J. Thompson, A. de Zwaan (1981): Control of phosphofructokinase from adductor muscle of a sessile bivalve and a free-living bivalve. Abstracts 3rd Congress of Europ. Soc. Comp. Physiol. Biochem., S.116-117. Pergamon Press, Oxford.

Ebberink, R.H.M., W. Zurburg, D.I. Zandee (1979): On the energy demand of the posterior adductor muscle of *Mytilus edulis* in catch during exposure to air. Mar. Biol. Lett. 1, 23-31.

Ebberink, R.H.M., A. de Zwaan (1980): Control of glycolysis in the posterior adductor muscle of the sea mussel *Mytilus edulis*. J. comp. Physiol. 137, 165-171.

Eberhardt, J. (1982): Untersuchungen über den Einfluß der Jahreszeit und von Hunger auf den Stoffwechsel des Wattwurmes *Arenicola marina*. Diplomarbeit, Münster.

Edmonds, S.J. (1957): The respiratory metabolism of *Dendrostomum cymodoceae* Edm. (Sipunculoidea). Aust. J. mar. Freshwat. Res. 8, 55-63.

Edmonds, S.J. (1962): Some notes on the abundance, environment and nutrition of *Sipunculus nudus* L. (Sipunculoidea) at Morgat, Brittany. Cah. Biol. mar. 3, 183-190.

Eguileor, M. de, R. Valvassori (1977): Studies on the helical and paramyosinic muscles. VII. Fine structure of body wall muscles in *Sipunculus nudus*. J. submicr. Cytol. 9, 363-372.

Ellington, W.R. (1981): Energy metabolism during hypoxia in the isolated, perfused ventricle of the whelk, *Busycon contrarium* Conrad. J. comp. Physiol. 142, 457-464.

Erecinska, M., M. Stubbs, Y. Miyata, Ch. M. Ditre, D.F. Wilson (1977): Regulation of cellular metabolism by intracellular phosphate. Biochim. biophys. Acta 462, 20-35.

Erust, V.V. (1970): The structure and function of the proboscis retractor muscle of the sipunculid *Golfingia gouldii*.Diss. Abstr. 31B, 3116.

Fahrenholz, S. (1980): Untersuchungen über die „Erholung" nach Anaerobiose beim Wattwurm *Arenicola marina:* Konzentrationen von Metaboliten in Körperflüssigkeiten, Darm-/Chloragoggewebe und Hautmuskelschlauch. Staatsarbeit, Münster.

Fairbairn, D. (1970): Biochemical adaptation and loss of genetic capacity in helminth parasites. Biol. Rev. 45, 29-72.

Famme, P. (1980): Oxygen dependence of the respiration by the mussel *Mytilus edulis* L. as function of size. Comp. Biochem. Physiol. 67A, 171-174.

Famme, P., J. Knudsen, E.S. Hansen (1981): The effect of oxygen on the aerobic-anaerobic metabolism of the marine bivalve, *Mytilus edulis* L. Mar. Biol. Lett. 2, 345-351.

Felbeck, H. (1980): Investigations on the role of the amino acids in anaerobic metabolism of the lugworm *Arenicola marina* L. J. comp. Physiol. 137, 183-192.

Felbeck, H., M. Grieshaber (1980): Investigations on some enzymes involved in the anaerobic metabolism of amino acids of *Arenicola marina* L. Comp. Biochem. Physiol. 66B, 205-213.

Fields, J.H.A., A.K. Eng, W.D. Ramsden, P.W. Hochachka, B. Weinstein (1980):Alanopine and strombine are novel imino acids produced by a dehydrogenase found in the adductor muscle of the oyster, *Crassostrea gigas*. Arch. Biochem. Biophys. 201, 110-114.

Fields, J.H.A., J.F. Quinn (1981): Some theoretical considerations on cytosolic redox balance during anaerobiosis in marine invertebrates. J. theoret. Biol. 88, 35-45.

Fitts, R.H., J.O. Holloszy (1976): Lactate and contractile force in frog muscle during development of fatigue and recovery. Am. J. Physiol. 231, 430-433.

Florkin, M. (1933): Récherches sur les hémérythrines. Archs. int. Physiol. 36, 247-328.

Florkin, M. (1934): La fonction respiratoire du milieu intérieur dans la série animale. Annls. Physiol. Physicochim. biol. 10, 599-684.

Florkin, M. (1976): Biochemical evidence for the phylogenetic relationships of the Sipuncula. In: M.E. Rice. M. Todorovic (Hrsg.): Proc. of the Intern. Symp. on the Biology of the Sipuncula and Echiura, Bd. 2, S. 95-108. Inst. f. Biol. Res., Belgrad.

Foster, R.C. (1974): Comparative biochemical studies of osmoregulation in Sipuncula. I. Steady state characteristics of two sipunculids in full strength seawater. Comp. Biochem. Physiol. 47A, 855-866.

Fréminet, A. (1981): Carbohydrate and amino acid metabolism during acute hypoxia in rats: blood and heart metabolites. Comp. Biochem. Physiol. 70B, 427-433.

Fréminet, A., L. Leclerc, C. Poyart, C. Huel, M. Gentil (1980): Alanine and succinate accumulation in the perfused rat heart during hypoxia. J. Physiol., Paris 76, 113-117.

Fuchs, R.F. (1910): Die elektrischen Erscheinungen am glatten Muskel. Pflügers Arch. 136, 65-100.

Gabbott, P.A., E.J.H. Head (1980): Seasonal changes in the specific activities of the pentose phosphate pathway enzymes, G-6-PDH and 6PGDH and NADP-dependent isocitrate dehydrogenase in the bivalves *Mytilus edulis*, *Ostrea edulis*, and *Crassostrea gigas*. Comp. Biochem. Physiol. 66B, 279-284.

Gäde, G. (1980a): Biological role of octopine formation in marine molluscs. Mar. Biol. Lett. 1, 121-135.

Gäde, G. (1980b): The energy metabolism of the foot muscle of the jumping cockle, *Cardium tuberculatum:* Sustained anoxia versus muscular activity. J. comp. Physiol. 137, 177-182.

Gäde, G. (1980c): A comparative study of octopine dehydrogenase isozymes in gastropod, bivalve and cephalopod molluscs. Comp. Biochem. Physiol. 67B, 575-582.

Gäde, G. (1981): Energy production during swimming in the adductor muscle of the bivalve *Lima hians:* comparison with the data from other bivalve molluscs. Physiol. Zool. 54, 400-406.

Gäde, G., G. Meinardus (1981): Anaerobic metabolism of the common cockle *Cardium edule*. V. Changes in the level of metabolites in the foot during aerobic recovery after anoxia. Mar. Biol. 65, 113-116.

Gäde, G., W. Weeda, P.A. Gabbott(1978): Changes in the level of octopine during the escape responses of the scallop *Pecten maximus* (L.). J. comp. Physiol. 124, 121-127.

Gawehn, K., H.U. Bergmeyer (1974): D-(-)-Lactat. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 1538-1541. Verlag Chemie, Weinheim.

Gevers, W. (1977): Generation of protons by metabolic processes in heart cells. J. Mol. Cell. Cardiol. 9, 867-874.

Gevers, W. (1979): Reply to Wilkie, D.R.: Generation of protons by metabolic processes other than glycolysis in muscle cells: a critical view. J. Mol. Cell. Cardiol. 11, 328-330.

Gillies, R.J., D.W. Deamer (1979): Intracellular pH: methods and applications. Curr. Top. Bioenerg. 9, 63-87.

Graßl, M. (1974): D-Alanin. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 1731-1734. Verlag Chemie, Weinheim.

Grieshaber, M. (1976): An enzymatic method for the estimation of octopine. Anal. Biochem. 74, 600-603.

Grieshaber, M. (1978): Breakdown and formation of high energy phosphates and octopine in the adductor muscle of the scallop, *Chlamys opercularis* (L.), during escape swimming and recovery. J. comp. Physiol. 126, 269-276.

Grieshaber, M., G. Gäde (1976): The biological role of octopine in the squid, *Loligo vulgaris* (Lamarck). J. comp. Physiol. 108, 225-232.

Grieshaber, M., G. Gäde (1977): Energy supply and the formation of octopine in the adductor muscle of the scallop *Pecten jacobaeus* (Lam.). Comp. Biochem. Physiol. 58B, 249-252.

Grieshaber, M., N. Hitzemann (1979): The formation of octopine in molluscs and in *Sipunculus nudus*. In: D.A. Holwerda (Hrsg.): Proc. of the Internat. Symp. on the Physiol. of Euryoxic Animals, Zeist, S. 64-67.

Grieshaber, M., E. Kronig, R. Koormann (1978): A photometric estimation of phospho-L-arginine, arginine and octopine using homogeneous octopine dehydrogenase isozyme 2 from the squid, *Loligo vulgaris* Lam. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 359, 133-136.

Grieshaber, M., E. Zebe (1978): Die Bildung von Octopin bei *Chlamys opercularis* und bei *Sipunculus nudus*. Verh. dt. zool. Ges. 1978, 266.

Gronenborn, A.M., K. Roth (1982): NMR-Spektroskopie *in vivo*. Chemie in unserer Zeit 16, 1-12.

Haas, S., F. Thomé-Beau, A. Olomucki, N. van Thoai (1973): Purification de l'octopine déshydrogénase de *Sipunculus nudus*. Etude comparative avec l'octopine déshydrogénase de *Pecten maximus*. C. R. Acad. Sc. Paris 276, 831-834.

Hadzi, J. (1976): The position of the Sipuncula in the system of the animal kingdom. In: M.E. Rice, M. Todorovic (Hrsg.): Proc. of the Intern. Symp. on the Biology of the Sipuncula and Echiura, Bd. 2, S. 91-94. Inst. f. Biol. Res., Belgrad.

Hammen, C.S. (1966): Carbon dioxide fixation in marine invertebrates - V. Rate and pathway in the oyster. Comp. Biochem. Physiol. 17, 289-296.

Hammen, C.S. (1969a): Lactate and succinate oxidoreductases in marine invertebrates. Mar. Biol. 4, 233-238.

Hammen, C.S. (1969b): Metabolism of the oyster, *Crassostrea virginica*. Am. Zool. 9, 309-318.

Hammen, C.S. (1979): Metabolic rates of marine bivalve molluscs determined by calorimetry. Comp. Biochem. Physiol. 62A, 955-959.

Hammen, C.S. (1980): Total energy metabolism of marine bivalve molluscs in anaerobic and aerobic states. Comp. Biochem. Physiol. 67A, 617-621.

Harvey, H.W. (1974): The chemistry and fertility of sea waters. Cambridge Univ. Press.

Heisler, N. (1975): Intracellular pH of isolated rat diaphragm muscle with metabolic and respiratory changes of extracellular pH. Respir. Physiol. 23, 243-255.

Heisler, N. (1978): Bicarbonate exchange between body compartments after changes of temperature in the larger spotted dogfish. Respir. Physiol. 33, 145-160.

Heisler, N. (1980): Regulation of the acid-base status in fishes. In: M.A. Ali (Hrsg.): Environmental physiology of fishes, S. 123-162. Plenum Press, New York.

Heisler, N. (1982): Transepithelial ion transfer processes as mechanisms for fish acid-base regulation in hypercapnia and lactacidosis. Can. J. Zool. 60, 1108-1122.

Heisler, N., P. Neumann (1980): The role of physico-chemical buffering and of bicarbonate transfer processes in intracellular pH regulation in response to changes of temperature in the larger spotted dogfish (*Scyliorhinus stellaris*). J. exp. Biol. 85, 99-110.

Heisler, N., J. Piiper (1971): The buffer value of rat diaphragm muscle tissue determined by P_{CO_2} equilibration of homogenates. Respir. Physiol. 12, 169-178.

Heisler, N., J. Piiper (1972): Determination of intracellular buffering properties in rat diaphragm muscle. Am. J. Physiol. 222, 747-753.

Heisler, N., R. Schorer (1970): Eine graphische Darstellungsweise des Säure-Basen-Haushaltes zur quantitativen Therapie seiner Störungen. Anaesthesist 19, 93-101.

Heisler, N., H. Weitz, A.M. Weitz (1976a): Extracellular and intracellular pH with changes of temperature in the dogfish *Scyliorhinus stellaris*. Respir. Physiol. 26, 249-263.

Heisler, N., H. Weitz, A.M. Weitz (1976b): Hypercapnia and resultant bicarbonate transfer processes in elasmobranch fish (*Scyliorhinus stellaris*). Bull. europ. Physiopath. resp. 12, 77-85.

Helmreich, E., C.F. Cori (1964): The role of adenylic acid in the activation of phosphorylase. Proc. nat. Acad. Sci. USA 51, 131-138.

Hemptinne, A. de, R. Marannes (1979): Effect of propionate on intracellular and surface pH in rat soleus muscle. J. Physiol., Lond. 295, 22P-23P.

Henze, M. (1910): Über den Einfluß des Sauerstoffdrucks auf den Gaswechsel einiger Meerestiere. Biochem. Z. 26, 255-278.

Herbst, M., P. Piontek (1972): Über den Verlauf des intrazellulären pH-Wertes des Skelettmuskels während der Kontraktion. Pflügers Arch. 335, 213-223.

Hermansen, L., J.B. Osnes (1972): Blood and muscle pH after maximal exercise in man. J. appl. Physiol. 32, 304-308.

Herreid, C.F. II (1980): Hypoxia in invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. 67A, 311-320.

Hérubel, M.A. (1907): Récherches sur les sipunculides. Mém. Soc. zool. Fr. 20. 107-418.

Hinke, J.A.M., M.R. Menard (1976): Intracellular pH of single crustacean muscle fibres by the DMO and electrode methods during acid and alkaline conditions. J. Physiol., Lond. 262, 533-552.

Hinke, J.A.M., M.R. Menard (1978): Evaluation of the DMO method for measuring intracellular pH. Respir. Physiol. 33, 31-40.

Hochachka, P.W. (1980): Living without oxygen. Closed and open systems in hypoxia tolerance. Harvard University Press, Cambridge, Mass.

Hochachka, P.W., J. Fields, T. Mustafa (1973): Animal life without oxygen: Basic biochemical mechanisms. Am. Zool 13, 543-555.

Hochachka, P.W., C.J. French, J. Meredith (1978): Metabolic and ultrastructural organization in *Nautilus* muscles. J. exp. Zool. 205, 51-62.

Hochachka, P.W., T. Mustafa (1972): Invertebrate facultative anaerobiosis. Science, N.Y. 178, 1056-1060.

Hochachka, P.W., T. Mustafa (1973): Enzymes in facultative anaerobiosis of molluscs - I. Malic enzyme of oyster adductor muscle. Comp. Biochem. Physiol. 45B, 625-637.

Hochachka, P.W., T.G. Owen, J.F. Allen, G.C. Whittow (1975): Multiple endproducts of anaerobiosis in diving vertebrates. Comp. Biochem. Physiol. 50B, 17-22.

Hochachka, P.W., G.N. Somero (1976): Enzyme and metabolic adaptions to low oxygen. In: R.C. Newell (Hrsg.): Adaption to environment. Essays on the physiology of marine animals, S. 279-314. Butterworths, London.

Hoffmann, K.H., T. Mustafa, J.B. Jørgensen (1979): Role of pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, malic enzyme and lactate dehydrogenase in anaerobic energy metabolism of *Tubifex* spec. J. comp. Physiol. 130, 337-345.

Hoffmann, P.J., C.P. Mangum (1970): The function of coelomic cell haemoglobin in the polychaete *Glycera dibranchiata*. Comp. Biochem. Physiol. 36, 211-228.

Holian, A., D.F. Wilson (1980): Relationship of transmembrane pH and electrical gradients with respiration and adenosine 5'-triphosphate synthesis in mitochondria. Biochemistry 19, 4213-4221.

Holwerda, D.A., E.C.J. Kruitwagen, A.M.T. de Bont (1981a): Regulation of pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activity during anaerobiosis in *Mytilus edulis* L. Mol. Physiol. 1, 165-171.

Holwerda, D.A., P. Notenboom, I. Zs.-Nagy (1981b): Biochemical characterization of cytosomes from freshwater mollusc nerve and heart tissue. In: Abstracts 3rd Congress of Europ. Soc. Comp. Physiol. Biochem., S. 122-123. Pergamon Press, Oxford.

Holwerda, D.A., A. de Zwaan (1979): Fumarate reductase of *Mytilus edulis* L. Mar. Biol. Lett. 1, 33-40.

Holwerda, D.A., A. de Zwaan (1980): On the role of fumarate reductase in anaerobic carbohydrate catabolism of *Mytilus edulis* L. Comp. Biochem. Physiol. 67B, 447-453.

Horst, J.D. van der (1974): *In vivo* biosynthesis of fatty acids in the pulmonate land snail *Cepaea nemoralis* under anoxic conditions. Comp. Biochem. Physiol. 47B, 181-187.

Hoult, D.J., S.J.W. Busby, D.G. Gadian, G.K. Radda, R.E. Richards, P.J. Seeley (1974): Observations of tissue metabolites using ^{31}P nuclear magnetic resonance. Nature, Lond. 252, 285-287.

Hyman, L.H. (1959): The protostomatous coelomates - Phylum Sipunculida. In: L.H. Hyman: The invertebrates, Bd. 5: Smaller coelomate groups, S. 610-696. McGraw-Hill Book Company, New York.

Jacobus, W.E., A. L. Lehninger (1973): Creatine kinase of rat heart mitochondria. Coupling of creatine phosphorylation to electron transport. J. biol. Chem. 248, 4803-4810.

Jansson, B.O. (1967): The availability of oxygen for the interstitial fauna of sandy beaches. J. exp. mar. Biol. Ecol. 1, 123-143.

Jaworek, D., W. Gruber, H.U. Bergmeyer (1974): Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 2178-2181. Verlag Chemie, Weinheim.

Johansen, K., C. Lenfant, T.A. Mecklenburg (1970): Respiration in the crab, *Cancer magister*. Z. vergl. Physiol. 70, 1-19.

Jones, J.D. (1972): Comparative physiology of respiration. Edw. Arnold, London.

Jorge, F.B. de, J.A. Petersen, A.S.F. Ditadi (1970): Comparative biochemical studies in *Sipunculus natans* and *Sipunculus multisulcatus* (Sipuncula). Comp. Biochem. Physiol. 35, 163-177.

Karlsson, J. (1971): Lactate and phosphagen concentrations in working muscle of man. Acta physiol. scand. 358 (Suppl.), 1-72.

Karlsson, J., B. Saltin (1970): Lactate, ATP, and CP in working muscles during exhaustive exercise in man. J. appl. Physiol. 29, 598-602.

Keifer, D.W. (1980): Action of propionic acid on anion transport in the barnacle muscle fiber. Fedn. Proc. Fedn. Am. Soc. exp. Biol. 39, 2155.

Klippenstein, G.L. (1980): Structural aspects of hemerythrin and myohemerythrin. Am. Zool. 20, 39-51.

Klippenstein, G.L., D.A. van Riper, E.A. Oosterom (1972): A comparative study of the oxygen transport proteins of *Dendrostomum pyroides*. Isolation and characterization of hemerythrins from muscle, the vascular system, and the coelom. J. biol. Chem. 247, 5959-5963.

Kluytmans, J.H., A.M.T. de Bont, J. Janus, T.C.M. Wijsman (1977): Time dependent chandes and tissue specifities in the accumulation of anaerobic fermentation products in the sea mussel *Mytilus edulis* L. Comp. Biochem. Physiol. 58B, 81-87.

Kluytmans, J.H., M. van Graft, J. Janus, H. Pieters (1978): Production and excretion of volabile fatty acids in the sea mussel *Mytilus edulis* L. J. comp. Physiol. 123, 163-167.

Kluytmans, J.H., D.I. Zandee, W. Zurburg, H. Pieters (1980): The influence of seasonal changes on energy metabolism in *Mytilus edulis* (L.). III. Anaerobic energy metabolism. Comp. Biochem. Physiol. 67B, 307-315.

Konings, W.N., J. Boonstra (1977): Anaerobic electron transfer and active transport in bacteria. Curr. Top. Membr. Transp. 9, 177-231.

Koormann, R., M. Grieshaber (1980): Investigations on the energy metabolism and on octopine formation of the common whelk, *Buccinum undatum* L. during escape and recovery. Comp. Biochem. Physiol. 65B, 543-547.

Krebs, H.A., H.F. Woods, K.G.M.M. Alberti (1975): Hyperlactataemia and lactic acidosis. Essays Med. Biochem. 1, 81-103.

Kreutzer, U. (1982): Untersuchungen zum Energiestoffwechsel an Muskelpräparaten von *Sipunculus nudus* L. Diplomarbeit, Münster.

Kreuzer, F. (1970): Facilitated diffusion of oxygen and its possible significance; a review. Respir. Physiol. 9, 1-30.

Kristensen, J.N. (1969): Irrigation in the sipunculid *Phascolion strombi* (Mont.). Ophelia 7, 101-112.

Kröger, A. (1978): Fumarate as terminal acceptor of phosphorylative electron transport. Biochim. biophys. Acta 505, 129-145.

Krüger, F. (1958): Zur Atmungsphysiologie von *Arenicola marina* L. Helgol. wiss. Meeresunters. 6, 193-201.

Krüger, F. (1971): Bau und Leben des Wattwurms *Arenicola marina* L. Helgol. wiss. Meeresunters. 22, 149-200.

Kubo, M. (1953): The oxygen equilibrium of hemerythrin and the Bohr effect. Bull. chem. Soc. Japan 26, 189-192.

Kupriyanov, V.V., E.K. Seppet, I.V. Emelin, V.A. Saks (1980): Phosphocreatine production coupled to the glycolytic reactions in the cytosol of cardiac cells. Biochim. biophys. Acta 592, 197-210.

Lamprecht, W., I. Trautschold (1974): Adenosin-5'-triphosphat. Bestimmung mit Hexokinase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 2151-2160. Verlag Chemie, Weinheim.

Latzko, E. M. Gibbs (1974): „Alkalische" C_1-Fructose-1,6-diphosphatase. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 1, S. 914-917. Verlag Chemie, Weinheim.

Lehninger, A.L. (1975): Biochemistry. Worth Publishers, Inc., New York.

Lipmann, F., O. Meyerhof (1930): Über die Reaktionsänderung des tätigen Muskels. Biochem. Z. 227, 84-109.

Livingstone, D.R. (1978): Anaerobic metabolism in the posterior adductor muscle of the common mussel *Mytilus edulis* in response to altered oxygen tension and temperature. Physiol. Zool. 51, 131-139.

Livingstone, D.R. (1982): Energy production in the muscle tissues of different kinds of molluscs. In: A.D.F. Addink, N. Spronk (Hrsg.): Exogenous and endogenous influences on metabolic and neural control, S. 257-274. Pergamon Press, Oxford.

Livingstone, D.R., B.L. Bayne (1974): Pyruvatekinase from the mantle tissue of *Mytilus edulis* L. Comp. Biochem. Physiol. 48B, 481-497.

Livingstone, D.R., B.L. Bayne (1977): Response of *Mytilus edulis* L. to low oxygen tension: Anaerobic metabolism of the posterior adductor muscle and mantle tissues. J. comp. Physiol. 114, 143-155.

Livingstone, D.R., J. Widdows, P. Fieth (1979): Aspects of nitrogen metabolism of the common mussel *Mytilus edulis:* Adaptation to abrupt and fluctuating changes in salinity. Mar. Biol. 53, 41-55.

Livingstone, D.R., A. de Zwaan, R.J. Thompson (1981): Aerobic metabolism, octopine production and phosphoarginine as sources of energy in the phasic and catch adductor muscles of the giant scallop *Placopecten magellanicus* during swimming and the subsequent recovery period. Comp. Biochem. Physiol. 70B, 35-44.

Long, G.L. (1976): The stereospecific distribution and evolutionary significance of invertebrate lactate dehydrogenases. Comp. Biochem. Physiol. 55B, 77-83.

Lowry, O.H., J.V. Passonneau (1972): A flexible system of enzymatic analysis. Academic Press, New York.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. J. biol. Chem. 193, 265-275.

Lykkeboe, G., K. Johansen (1975): Comparative aspects of buffering capacity in muscle. Respir. Physiol. 25, 353-361.

Mainwood, G.W., P. Worsley-Brown (1975): The effects of extracellular pH and buffer concentration on the efflux of lactate from frog sartorius muscle. J. Physiol., Lond. 250, 1-22.

Malan, A., T.L. Wilson, R.B. Reeves (1976): Intracellular pH in cold-blooded vertebrates as a function of body temperature. Respir. Physiol. 28, 29-47.

Mangum, C.P. (1970): Respiratory physiology in annelids. Am. Scient. 58, 641-647.

Mangum, C.P. (1976): Primitive respiratory adaptations. In: R.C. Newell (Hrsg.): Adaptation to environment. Essays on the physiology of marine animals, S. 191-278. Butterworths, London.

Mangum, C.P. (1977): The analysis of oxygen uptake and transport in different kinds of animals. J. exp. mar. Biol. Ecol. 27, 125-140.

Mangum, C.P. (1980): Respiratory function of the hemocyanins. Am. Zool. 20, 19-38.

Mangum, C.P., J.A. Carhart (1972): Oxygen equilibrium of coelomic cell hemoglobin from the blood worm *Glycera dibranchiata*. Comp. Biochem. Physiol. 43A, 949-958.

Mangum, C.P., M. Kondon (1975): The role of coelomic hemerythrin in the sipunculid worm *Phascolopsis gouldi*. Comp. Biochem. Physiol. 50A, 777-785.

Mangum, C.P., W. van Winkle (1973): Responses of aquatic invertebrates to declining oxygen conditions. Am. Zool. 13, 529-541.

Mangum, C.P., B.R. Woodin, C. Bonaventura, B. Sullivan, J. Bonaventura (1975): The role of coelomic and vascular hemoglobin in the annelid family Terebellidae. Comp. Biochem. Physiol. 51A, 281-294.

Manwell, C. (1960a): Oxygen equilibrium of brachiopod *Lingula* hemerythrin. Science, N.Y. 132, 550-551.

Manwell, C. (1960b): Histological specifity of respiratory pigments. II. Oxygen transfer systems involving hemerythrins in sipunculid worms of different ecologies. Comp. Biochem. Physiol. 1, 277-285.

Manwell, C. (1960c): Comparative physiology: Blood pigments. A. Rev. Physiol. 22, 191-244.

Manwell, C. (1963): Genetic control of hemerythrin specifity in a marine worm. Science, N.Y. 139, 755-758.

McDonald, D.G., R.G. Boutilier, D.P. Toews (1980): The effects of enforced activity on ventilation, circulation, and blood acid-base balance in the semi-terrestrial anuran, *Bufo marinus*. J. exp. Biol. 84, 273-287.

McDonald, D.G., B.R. McMahon, C.M. Wood (1979): An analysis of acid-base disturbances in the hemolymph following strenuous activity in the dungeness crab *Cancer magister*. J. exp. Biol. 79, 47-58.

Mehler, A.H., A. Kornberg, S. Grisolia, S. Ochoa (1948): The enzymatic mechanism of oxidation-reductions between malate or isocitrate and pyruvate. J. biol. Chem. 174, 961-977.

Meinardus, G., G. Gäde (1981): Anaerobic metabolism of the common cockle, *Cardium edule*. IV. Time dependent changes of metabolites in the foot and gill tissue induced by anoxia and electrical stimulation. Comp. Biochem. Physiol. 70B, 271-277.

Metalnikoff, S. (1900): *Sipunculus nudus*. Z. wiss. Zool. 68, 261-322.

Metcalfe, L.D. (1963): The gaschromatography of fatty acids and related long chain compounds on phosphoric acid treated columns. Gaschrom. 1, 7-11.

Meyerhof, O. (1928): Ueber die Verbreitung der Argininphosphorsäure in der Muskulatur der Wirbellosen. Archs. Sci. biol. Napoli 12, 536-548.

Meyerhof, O., K. Lohmann (1926): Über die Vorgänge bei der Muskelermüdung. Biochem. Z. 168, 128-165.

Meyerhof, O., K. Lohmann (1928): Über die natürlichen Guanidinophosphorsäuren (Phosphagene) in der quergestreiften Muskulatur. II. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Guanidinophosphorsäuren. Biochem. Z. 196, 49-72.

Miller, K.J., A. W. Pritchard, P.S. Rutledge (1976): Respiratory regulation and the role of the blood in the burrowing shrimp *Callianassa californiensis* (Decapoda: Thalassinidea). Mar. Biol. 36, 233-242.

Milne, M.D., B.H. Scribner, M.A. Crawford (1958): Non ionic diffusion and the excretion of weak acids and bases. Am. J. Med. 33, 709-729.

Mommsen, T.P., J. Ballantyne, D. MacDonald, J. Gosline, P.W. Hochachka (1981): Analogues of red and white muscle in squid mantle. Proc. natn. Acad. Sci. USA 78, 3274-3278.

Mustafa, T., P.W. Hochachka (1971): Catalytic and regulatory properties of pyruvate kinases in tissues of a marine bivalve. J. biol. Chem. 246, 3196-3203.

Mustafa, T., P.W. Hochachka (1973a): Enzymes in facultative anaerobiosis of molluscs - II. Basic catalytic properties of phosphoenolpyruvate carboxykinase in oyster adductor muscle. Comp. Biochem. Physiol. 45B, 639-655.

Mustafa, T., P.W. Hochachka (1973b): Enzymes in facultative anaerobiosis of molluscs - III. phosphoenolpyruvate carboxykinase and its role in aerobic-anaerobic transition. Comp. Biochem. Physiol. 45B, 657-667.

Needham, D.M. (1971): Machina carnis. The biochemistry of muscular contraction in its historical development. Cambridge University Press.

Netter, H. (1959): Theoretische Biochemie. Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensvorgänge. Springer Verlag, Berlin.

Newell, R.C. (1973): Factors affecting the respiration of intertidal invertebrates. Am. Zool. 13, 513-528.

Newell, R.C. (1979): Biology of intertidal animals. Marine Ecological Surveys Ltd, Faversham, Kent.

Newell, R.C., L. Johnson, L. Kofoed (1978): Effects of environmental temperature and hypoxia on the oxygen consumption of the suspension-feeding gastropod *Crepidula fornicata* L. Comp. Biochem. Physiol. 59A, 175-182.

Newsholme, E.A. (1976): The role of the fructose 6-phosphate/ fructose 1,6-diphosphate cycle in metabolic regulation and heat generation. Biochem. Soc. Trans. 4, 978-984.

Newsholme, E.A., J. Beis, A.R. Leech, V.A. Zammit (1978a): The role of creatine kinase and arginine kinase in muscle. Biochem. J. 172, 533-537.

Newsholme, E.A., B. Crabtree (1973): Metabolic aspects of enzyme activity regulation. Symp. Soc. Exp. Biol. 27, 429-460.

Newsholme, E.A., B. Crabtree (1979): Theoretical principles in the approaches to control of metabolic pathways and their application to glycolysis in muscle. J. Mol. Cell. Cardiol. 11, 839-856.

Newsholme, E.A., B. Crabtree (1981): Flux-generating and regulatory steps in metabolic control. TIBS 6, 53-56.

Newsholme, E.A., C. Start (1973): Regulation in metabolism. Wiley and Sons Ltd., London.

Newsholme, E.A., V.A. Zammit, B. Crabtree (1978b): The role of glucose and glycogen as fuels for muscle. Biochem. Soc. Trans. 6, 512-520.

Ogawa, S., H. Rottenberg, T.R. Brown, R.G. Shulman, C.L. Castillo, P. Glynn (1978): High resolution ^{31}P nuclear magnetic resonance study of rat liver mitochondria. Proc. natn. Acad. Sci. USA 75, 1796-1800.

Oglesby, L.C. (1969): Inorganic components and metabolism; ionic and osmotic regulation: Annelida, Sipuncula, and Echiura. In: M. Florkin, B.T. Scheer (Hrsg.): Chemical zoology, Bd. IV. Annelida, Echiura, and Sipuncula , S. 211-310. Academic Press, New York.

Oglesby, L.C. (1975): An analysis of water-content regulation in selected worms. In: F.J. Vernberg (Hrsg.): Physiological ecology of estuarine organisms , S. 181-204.University of South Carolina Press, Columbia, South Carolina.

Oglesby, L.C. (1982): Salt and water balance in the sipunculan *Phascolopsis gouldi:* Is any animal a „simple osmometer"? Comp. Biochem. Physiol. 71A, 363-368.

Opie, L.H., E.A. Newsholme (1967): The activities of fructose 1,6-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. Biochem. J. 103, 391-399.

Owen, J.D., H.M. Brown (1980): Intracellular changes of H^+ and Ca^{2+} activities in *Aplysia* giant neurons as measured with ion selective microelectrodes. Comp. Biochem. Physiol. 66A, 197-201.

Pamatmat, M.M. (1979): Anaerobic heat production of bivalves (*Polymesoda caroliniana* and *Modiolus demissus*) in relation to temperature, body size, and duration of anoxia. Mar. Biol. 53, 223-229.

Pelster, B. (1982): Untersuchungen über den Energiestoffwechsel von *Branchiostoma lanceolatum*. Staatsarbeit, Münster.

Pette, D. (1968): Aktivitätsmuster und Ortsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels. In: F.W. Schmidt (Hrsg.): Praktische Enzymologie, Bd. 1, S. 15-49. Verlag Hans Huber, Bern/Stuttgart.

Pette, D., G. Dölken (1975): Some aspects of regulation of enzyme levels in muscle energy-supplying metabolism. Adv. Enzyme Regul. 13, 355-377.

Pette, D., C. Spamer (1979): Metabolic subpopulations of muscle fibers. A quantitative study. Diabetes 28 (Suppl. 1), 25-29.

Phillips, R.C., P. George, R.J. Rutman (1966): Thermodynamic studies of the formation and ionization of the magnesium(II) complexes of ADP and ATP over the pH range 5 to 9. J. Am.chem. Soc. 88, 2631-2640.

Phillips, R.C., P. George, R.J. Rutman (1969): Thermodynamic data for the hydrolysis of adenosine triphosphate as a function of pH, Mg^{2+} ion concentration, and ionic strength. J. biol. Chem. 244, 3330-3342.

Piiper, J. (1980): Production of lactic acid in heavy exercise and acid-base balance. In: P.R. Moret, J. Weber, J. Haissly, H. Denolin: Lactate. Physiologic, methodologic and pathologic approach, S. 35-48. Springer Verlag, Berlin.

Piiper, J., P. Dejours, P. Haab, H. Rahn (1971): Concepts and basic quantities in gas exchange physiology. Respir. Physiol. 13, 292-304.

Piiper, J., M. Meyer, F. Drees (1972): Hydrogen ion balance in the elasmobranch *Scyliorhinus stellaris* after exhausting activity. Respir. Physiol. 16, 290-303.

Pionetti, J.M., A. Toulmond (1980): Tide-related changes of volatile fatty acids in the blood of the lugworm, *Arenicola marina* (L.). Can. J. Zool. 58, 1723-1727.

Pörtner, H.O., B. Surholt, M. Grieshaber (1979): Recovery from anaerobiosis of the lugworm *Arenicola marina* L.: Changes of metabolite concentrations in the body wall musculature. J. comp. Physiol. 133, 227-231.

Prosser, C.L. (Hrsg.) (1973): Comparative animal physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Prosser, C.L., H.J. Curtis, D.M. Travis (1951): Action potentials from some invertebrate non-striated muscles. J. cell. comp. Physiol. 38, 299-319.

Prosser, C.L., N. Sperelakis (1959): Electrical evidence for dual innervation of muscle fibers in the sipunculid *Golfingia (= Phascolosoma)*. J. cell. comp. Physiol. 54, 129-134.

Rahn, H. (1966): Aquatic gas exchange: theory. Respir. Physiol. 1, 1-12.

Redfield, A.C., M. Florkin (1931): The respiratory function of the blood of *Urechis caupo*. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole 61, 185-210.

Reger, J.F. (1964): Identification of two types of muscle fiber in the proboscis retractor of *Sipunculus*. J. Cell Biol. 23, 123A-124A.

Regnouf, F., N. van Thoai (1970): Octopine and lactate dehydrogenases in mollusc muscles. Comp. Biochem. Physiol. 32, 411-416.

Rice, M.E., M. Todorovic (Hrsg.) (1975): Proc. of the Intern. Symp. on the Biology of the Sipuncula and Echiura, Bd. 1. Inst. f. Biol. Res., Belgrad.

Roos, A. (1975): Intracellular pH and distribution of weak acids across cell membranes. A study of D- and L-lactate and of DMO in rat diaphragm. J. Physiol., Lond. 249, 1-25.

Roos, A., W.F. Boron (1978): Intracellular pH transients in rat diaphragm muscle measured with DMO. Am. J. Physiol. 235, C49-C54.

Roos, A., W.F. Boron (1981): Intracellular pH. Physiol. Rev. 61, 296-434.

Rovetto, M.J., W.F. Lamberton, J.R. Neely (1975): Mechanisms of glycolytic inhibition in ischemic rat hearts. Circulation Res. 37, 742-751.

Ruben, J.A., A.F. Bennett (1980): Antiquity of the vertebrate pattern of activity metabolism and its possible relation to vertebrate origins. Nature, Lond. 286, 886-888.

Rüegg, J.C. (1971): Smooth muscle tone. Physiol. Rev. 51. 201-248.

Sahlin, K., R.C. Harris, B. Nylind, E. Hultman (1976): Lactate content and pH in muscle samples obtained after dynamic exercise. Pflügers Arch. 367, 143-149.

Sanborn, T., W. Garin, S. Berkowitz, T. Perille, M. Lesch (1979): Augmented conversion of aspartate and glutamate to succinate during anoxia in rabbit heart. Am. J. Physiol. 237, H535-541.

Saz, H.J. (1981): Energy metabolism of parasitic helminths: Adaptation to parasitism. A. Rev. Physiol. 43, 323-341.

Scheer, B.T. (1969): Carbohydrates and carbohydrate metabolism: Annelida, Sipunculida, Echiurida. In: M. Florkin, B.T. Scheer (Hrsg.): Chemical zoology, Bd. IV. Annelida, Echiura, and Sipuncula, S. 135-145. Academic Press, New York.

Schell, J., M. van Montagu, M. de Beuckeleer, M. de Block, A. Depicker, M. de Wilde, G. Engler, C. Cenetello, J.P. Hernalsteens, M. Holsters, J. Seurinck, B. Silva, F. van Vliet, R. Villarroel (1979): Interactions and DNA transfer between *Agrobacterium tumefaciens*, the Ti-plasmid and the plant host. Proc. R. Soc. Lond. B 204, 251-266.

Schöttler, U. (1977a): The energy-yielding oxidation of NADH by fumarate in anaerobic mitochondria of *Tubifex* sp. Comp. Biochem. Physiol. 58B, 151-156.

Schöttler, U. (1977b): NADH-generating reactions in anaerobic *Tubifex* mitochondria. Comp. Biochem. Physiol. 58B, 261-265.

Schöttler, U. (1978a): The influence of anaerobiosis on the levels of adenosine nucleotides and some glycolytic metabolites in *Tubifex* sp. (Annelida, Oligochaeta). Comp. Biocchem. Physiol. 61B, 29-32.

Schöttler, U. (1978b): Investigations of the anaerobic metabolism of the polychaete worm *Nereis diversicolor* M. J. comp. Physiol. 125, 185-189.

Schöttler, U. (1979): On the anaerobic metabolism of three species of *Nereis* (Annelida). Mar. Ecol. Prog. Ser. 1, 249-254.

Schöttler, U. (1980): Der Energiestoffwechsel bei biotopbedingter Anaerobiose: Untersuchungen an Anneliden. Verh. dt. zool. Ges. 1980, 228-240.

Schöttler, U. (1982): Vergleichende Untersuchungen zum Anaerobiosestoffwechsel von Polychaeten. Habilitationsschrift, Münster.

Schöttler, U., G. Schroff (1976): Untersuchungen zum anaeroben Glykogenabbau bei *Tubifex tubifex* M. J. comp. Physiol. 108, 243-254.

Schöttler, U., G. Wienhausen (1981): The importance of the phosphoenolpyruvate carboxykinase in the anaerobic metabolism of two marine polychaetes. *In vivo* investigations on *Nereis virens* and *Arenicola marina*. Comp. Biochem. Physiol. 68B, 41-48.

Schroff, G., U. Schöttler (1977): Anaerobic reduction of fumarate in the body wall musculature of *Arenicola marina* (Polychaeta). J. comp. Physiol. 116, 325-336.

Schroff, G., E. Zebe (1980): The anaerobic formation of propionic acid in the mitochondria of the lugworm *Arenicola marina*. J. comp. Physiol. 138, 35-41.

Schulz, Th.K.F., J.H. Kluytmans, D.I. Zandee (1981): *In vitro* production of propionic acid in mantle mitochondria of the sea mussel *Mytilus edulis* L. In: Abstracts 3rd Congress of Europ. Soc. Comp. Physiol. Biochem., S. 126-127, Pergamon Press, Oxford.

Shick, J.M., A. de Zwaan, A.M.T. de Bont (1982): Anoxic metabolic rate in the mussel *Mytilus edulis* L. estimated by simultaneous direct calorimetry and biochemical analysis. Physiol. Zool., im Druck.

Siebenaller, J.F. (1979): Regulation of pyruvate kinase in *Mytilus edulis* by phosphorylation - dephosphorylation. Mar. Biol. Lett. 1, 105-110.

Siegmund, B. (1982): Die Bedeutung der freien Aminosäuren für den anaeroben Stoffwechsel von *Arenicola marina*. Diplomarbeit, Münster.

Siesjö, B.K. (1973): Metabolic control of intracellular pH. Scand. J. clin. Lab. Invest. 32, 97-104.

Simpson, J.W., J. Awapara (1966): The pathway of glucose degradation in some invertebrates. Comp. Biochem. Physiol. 18, 527-548.

Slyke, D.D. van (1922): On the measurement of buffer values and on the relationship of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. J. biol. Chem. 52, 525-570.

Smatresk, N.J., J.N. Cameron (1981): Post-exercise acid-base balance and ventilatory control in *Birgus latro*, the coconut crab. J. exp. Zool. 218, 75-82.

Smatresk, N.J., A.J. Preslar, J.N. Cameron (1979): Post-exercise acid-base disturbance in *Gecarcinus lateralis*, a terrestrial crab. J. exp. Zool. 210, 205-210.

Smith, R.M., R.A. Alberty (1956): The apparent stability constants of ionic complexes of various adenosine phosphates with divalent cations. J. Am. chem. Soc. 78, 2376-2380.

Sober, H.A. (Hrsg.) (1973): Handbook of biochemistry. Selected data for molecular biology. CRC Press, Cleveland/Ohio.

Staudte, H.W., D. Pette (1972): Correlations between enzymes of energy-supplying metabolism as a basic pattern of organization in muscle. Comp. Biochem. Physiol. 41B, 533-540.

Stöckmann, K. (1980): Untersuchungen über den Energiestoffwechsel von *Patella vulgata*. Staatsarbeit, Münster.

Stokes, T.M., J. Awapara (1968): Alanine and succinate as end products of glucose degradation in the clam, *Rangia cuneata*. Comp. Biochem. Physiol. 25, 883-892.

Storey, K.B. (1976): Purification and properties of adductor muscle phosphofructokinase from the oyster, *Crassostrea virginica*. The aerobic/anaerobic transition: Role of arginine phosphate in enzyme control. Eur. J. Biochem. 70, 331-337.

Storey, K.B. (1977a): Purification and characterization of arginine kinase from the mantle muscle of the squid *Symplectoteuthis oualaniensis*. Role of the phosphagen/phosphagen kinase system in a highly aerobic muscle. Arch. Biochem. Biophys. 179, 518-526.

Storey, K.B. (1977b): Tissue specific isozymes of octopine dehydrogenase in the cuttlefish, *Sepia officinalis*. The roles of octopine dehydrogenase and lactate dehydrogenase in *Sepia*. J. comp. Physiol. 115, 159-169.

Storey, K.B. (1981): Effects of arginine phosphate and octopine on glycolytic enzyme activities from *Sepia officinalis* mantle muscle. J. comp. Physiol. 142, 501-507.

Storey, K.B., J.M. Storey (1979a): Kinetic characterization of tissue-specific isozymes of octopine dehydrogenase from mantle muscle and brain of *Sepia officinalis*. Functional similarities to the M_4 and H_4 isozymes of lactate dehydrogenase. Eur. J. Biochem. 93, 545-552.

Storey, K.B., J.M. Storey (1979b): Octopine metabolism in the cuttlefish *Sepia officinalis:* Octopine production by muscle and its role as an aerobic substrate for non-muscular tissues. J. comp. Physiol. 131, 311-319.

Strome, D.R., R. Clancy, N.C. Gonzalez (1976): Myocardial CO_2-buffering: role of transmembrane transport of H^+ or HCO_3^- ions. Am. J. Physiol. 230, 1037-1041.

Surholt, B. (1977): The influence of oxygen deficiency and electrical stimulation on the concentrations of ATP, ADP, AMP and phosphotaurocyamine in the body-wall musculature of *Arenicola marina*. Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 358, 1455-1461.

Surholt, B. (1981): Substrat-Zyklen in Insektenflugmuskeln. Habilitationsschrift, Münster.

Swierczynski, J. (1980): Purification and some properties of extramitochondrial malic enzyme from rat skeletal muscle. Biochim. biophys. Acta 616, 10-21.

Swierczynski, J., P.W.D. Scislowski, E.F. Skorkowski (1980a): Mitochondrial malic enzyme from the crayfish abdomen muscle. Purification, regulatory properties and possible physiological role. Comp. Biochem. Physiol. 67B, 49-55.

Swierczynski, J., A. Stankiewicz, P. Scislowski, Z. Aleksandrowicz (1980b): Isolation and regulatory properties of mitochondrial malic enzyme from rat skeletal muscle. Biochim. biophys. Acta 612, 1-10.

Taegtmeyer, H. (1978): Metabolic responses to cardiac hypoxia. Increased production of succinate by rabbit papillary muscles. Circulation Res. 43, 808-815.

Taylor, A.C., A.R. Brand (1976): A comparative study of the respiratory responses of the bivalves *Arctica islandica* and *Mytilus edulis* to declining oxygen tension. Proc. R. Soc. Lond. B 190, 443-456.

Thillart, G. van den (1982): Adaptations of fish energy metabolism to hypoxia and anoxia. Mol. Physiol. 2, 49-61.

Thoai, N. van, Y. Robin (1959): Métabolisme des derivés guanidylés. VIII. Biosynthèse de l'octopine et répartition de l'enzyme l'opérant chez les invertebrés. Biochim. biophys. Acta 35, 446-453.

Thoai, N. van, Y. Robin (1969): Guanidine compounds and phosphagens. In: M. Florkin, B.T. Scheer (Hrsg.): Chemical zoology, Bd. IV. Annelida, Echiura, and Sipuncula, S. 163-203. Academic Press, New York.

Thomas, R.C. (1976): The effect of carbon dioxide on the intracellular pH and buffering power of snail neurones. J. Physiol., Lond. 255, 715-735.

Thompson, R.J., D.R. Livingstone, A. de Zwaan (1980): Physiological and biochemical aspects of the valve snap and valve closure responses in the giant scallop *Placopecten magellanicus*. I. Physiology. J. comp. Physiol. 137, 97-104.

Toulmond, A. (1971): Sur une particularité du pouvoir tampon de l'hémoglobine d'Arénicole (*Arenicola marina* (L.), Annélide, Polychète). C.R. Acad. Sc. Paris 272, 3184-3187.

Toulmond, A. (1973): Tide-related changes of blood respiratory variables in the lugworm *Arenicola marina* (L.). Respir. Physiol. 19, 130-144.

Toulmond, A. (1975): Blood oxygen transport and metabolism of the confined lugworm *Arenicola marina* (L.). J. exp. Biol. 63, 647-660.

Trivedi, B., W.H. Danforth (1966): Effect of pH on the kinetics of frog muscle phosphofructokinase. J. biol. Chem. 241, 4110-4112.

Truchot, J.P. (1975a): Blood acid-base changes during experimental emersion and reimmersion of the intertidal crab *Carcinus maenas* (L.). Respir. Physiol. 23, 351-360.

Truchot, J.P. (1975b): Action de l'hypercapnie sur l'état acide-base du sang chez le crabe *Carcinus maenas* (L.) (Crustacé Décapode). C.R. Acad. Sc., Paris 280, 311-314.

Truchot, J.P. (1976): Carbon dioxide combining properties of the blood of the shore crab *Carcinus maenas* (L.): CO_2-dissociation curves and Haldane effect. J. comp. Physiol. 112, 283-293.

Truchot, J.P. (1979): Mechanisms of the compensation of blood respiratory acid-base disturbances in the shore crab *Carcinus maenas* (L.). J. exp. Zool. 210, 407-416.

Trueman, E.R. (1975): The locomotion of soft bodied animals. Edward Arnold, London.

Trueman, E.R., R.L. Foster-Smith (1976): The mechanism of burrowing of *Sipunculus nudus*. J. Zool. 179, 373-386.

Tucker, V.A. (1967): Method for oxygen content and dissociation curves on microliter blood samples. J. appl. Physiol. 23, 410-414.

Tunnicliffe, V. (1981): High species diversity and abundance of the epibenthic community in an oxygen deficient basin. Nature, Lond. 294, 354-356.

Uexküll, J. von (1896): Zur Muskel- und Nervenphysiologie von *Sipunculus nudus*. Z. Biol. 33, 1-27.

Uexküll, J. von (1903): Studien über den Tonus. I. Der biologische Bauplan von *Sipunculus nudus*. Z. Biol. 44, 269-344.

Ultsch, G.R., D.C. Jackson (1982): Long-term submergence at 3° C of the turtle, *Chrysemys picta bellii*, in normoxic and severely hypoxic water. I. Survival, gas exchange and acid-base status. J. exp. Biol. 96, 11-28.

Utter, M.F., K. Kurahashi (1954): Mechanism of action of oxalacetic carboxylase. J. biol. Chem. 207, 821-840.

Vázquez-Baanante, I., M. Rosell-Pérez (1979): *In vitro* studies of *Pecten maximus* glycogen phosphorylase and the interconversion of their forms. Comp. Biochem. Physiol. 62B, 381-387.

Veloso, D., R.W. Guynn, M. Oskarsson, R.L. Veech (1973): The concentrations of free and bound magnesium in rat tissues. Relative constancy of free Mg^{2+} concentrations. J. biol. Chem. 248, 4811-4819.

Vollmer, M., P.W. Hochachka, T.P. Mommsen (1981): Octopine dehydrogenase and phosphoarginine kinase in squid mantle: Cooperation of two enzymes at the arginine branchpoint in cephalopod muscle. Can. J. Zool. 59, 1447-1453.

Vooys, C.G.N. de, A. de Zwaan (1978): The rate of oxygen consumption and ammonia excretion by *Mytilus edulis* after various periods of exposure to air. Comp. Biochem. Physiol. 60A, 343-347.

Waddell, W.J., R.G. Bates (1969): Intracellular pH. Physiol. Rev. 49, 285-329.

Waddell, W.J., T.C. Butler (1959): Calculation of intracellular pH from the distribution of 5,5-dimethyl-2,4-oxazolidinedione (DMO). Application to skeletal muscle of the dog. J. clin. Invest. 38, 720-729.

Warburg, O., W. Christian (1936): Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nucleotide). Biochem. Z. 287, 291-328.

Weber, R.E. (1978): Respiratory pigments. In: P.J. Mill (Hrsg.): Physiology of Annelida, S. 393-446. Academic Press, New York.

Weber, R.E. (1980): Functions of invertebrate hemoglobins with special reference to adaptations to environmental hypoxia. Am. Zool. 20, 79-101.

Weber, R.E., R. Fänge, K.K. Rasmussen (1979): Respiratory significance of priapulid hemerythrin. Mar. Biol. Lett. 1, 87-97.

Wells, G.P. (1949): The behaviour of *Arenicola marina* L. in sand, and the role of spontaneous activity cycles. J. mar. biol. Ass. UK 28, 465-478.

Wells, G.P. (1950): The anatomy of the body wall and appendages in *Arenicola marina* L., *Arenicola claparedii* Levinsen and *Arenicola ecaudata* Johnston. J. mar. biol. Ass. UK 29, 1-44.

Wells, R.M.G. (1974): Hydrogen ion activity in polychaete body fluids. Comp. Biochem. Physiol. 49A, 567-574.

Wells, R.M.G., R.P. Dales (1974): Oxygenation properties of haemerythrin in the blood of *Magelona papillicornis* Müller (Polychaeta: Magelonidae). Comp. Biochem. Physiol. 49A, 57-64.

Wells, R.M.G., R.P. Dales (1975): Haemoglobin function in *Terebella lapidaria* L., an intertidal terebellid polychaete. J. mar. biol. Ass. UK 55, 211-220.

Wells, R.M.G., L.M. Warren (1982): Oxygen binding of erythrocruorin and coelomic cell haemoglobin from the terebellid polychaete *Neoamphitrite figulus* related to some environmental factors. J. mar. biol. Ass. UK 62, 373-384.

Whereat, A.F., F.E. Hull, M.W. Orishimo (1967): The role of succinate in the regulation of fatty acid synthesis by heart mitochondria. J. biol. Chem. 242, 4013-4022.

Widdows, J., B.L. Bayne, D.R. Livingstone, R.I.E. Newell, P. Donkin (1979): Physiological and biochemical responses of bivalve molluscs to exposure to air. Comp. Biochem. Physiol. 62A, 301-308.

Wienhausen, G. (1976): Untersuchungen über „Schlüssel"enzyme des anaeroben Stoffwechsels und ihre Lokalisierung bei *Arenicola marina* L. Diplomarbeit, Münster.

Wienhausen, G. (1981): Anaerobic formation of acetate in the lugworm *Arenicola marina*. Naturwissenschaften 68, 206.

Wijsman, T.C.M. (1975): pH-fluctuations in *Mytilus edulis* L. in relation to shell movements under aerobic and anaerobic conditions. In: H. Barnes (Hrsg.): Proc. 9th Europ. mar. biol. Symp., S. 139-149. Aberdeen University Press.

Wijsman, T.C.M. (1976a): Regulation at the phosphoenolpyruvate branchpoint by the adenylate energy charge in *Mytilus edulis* L. In: T.C.M. Wijsman: Biochemical adaptations of *Mytilus edulis* L. on facultative anaerobiosis, S. 56-71. Dissertation.

Wijsman, T.C.M. (1976b): Adenosine phosphates and energy charge in different tissues of *Mytilus edulis* L. under aerobic and anaerobic conditions. J. comp. Physiol. 107, 129-140.

Wilkie, D.R. (1979): Generation of protons by metabolic processes other than glycolysis in muscle cells: a critical view. J. Mol. Cell. Cardiol. 11, 325-330.

Williamson, D.H. (1974): L-Alanin. Bestimmung mit Alanindehydrogenase. In: H.U. Bergmeyer (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. 2, S. 1724-1727. Verlag Chemie, Weinheim.

Wilson, D.F., K. Nishiki, M. Erecinska (1981): Energy metabolism in muscle and its regulation during individual contraction-relaxation cycles. TIBS 6, 16-19.

Wilson, M.A., J. Cascarano (1970): The energy-yielding oxidation of NADH by fumarate in submitochondrial particles of rat tissues. Biochim. biophys. Acta 216, 54-62.

Wittenberg, J.B. (1963): Facilitated diffusion of oxygen through haemerythrin solutions. Nature, Lond. 199, 816-817.

Wollenberger, A., O. Ristau, G. Schoffa (1960): Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebestücke. Pflügers Arch. 270, 399-412.

Wood, C.M., B.R. McMahon, D.G. McDonald (1977): An analysis of changes in blood pH following exhausting activity in the starry flounder *Platichthys stellatus*. J. exp. Biol. 69, 173-185.

Wood, C.M., D.J. Randall (1981): Haemolymph gas transport, acid-base regulation, and anaerobic metabolism during exercise in the land crab (*Cardisoma carnifex*). J. exp. Zool. 218, 23-35.

Wu, S.W.N., S.C. Wong, D. Yeung (1979): Apparent inhibition of pyruvate kinase by phosphocreatine and phosphoarginine. Comp. Biochem. Physiol. 63B, 29-34.

Zaba, B.N., J.I. Davies (1981): Carbohydrate metabolism in isolated mantle tissue of *Mytilus edulis* L. Isotopic studies on the activities of the Embden-Meyerhof and pentosephosphate pathways. Mol. Physiol. 1, 97-112.

Zammit, V.A. (1978): Possible relationship between energy metabolism of muscle and oxygen binding characteristics of haemocyanin of cephalopods. J. mar. biol. Ass. UK 58, 421-424.

Zammit, V.A., I. Beis, E.A. Newsholme (1978): Maximum activities and effects of fructose bisphosphate on pyruvate kinase from muscles of vertebrates and invertebrates in relation to the control of glycolysis. Biochem. J. 174, 989-998.

Zammit, V.A., E.A. Newsholme (1976): The maximum activities of hexokinase, phosphorylase, phosphofructokinase, glycerol phosphate dehydrogenases, lactate dehydrogenase, octopine dehydrogenase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, nucleoside diphosphatekinase, glutamate-oxaloacetate transaminase and arginine kinase in relation to carbohydrate utilization in muscles from marine invertebrates. Biochem. J. 160, 447-462.

Zandee, D.I., D.A. Holwerda, A. de Zwaan (1980): Energy metabolism in bivalves and cephalopods. In: R. Gilles (Hrsg.): Animals and environmental fitness, Bd. 1, S. 185-206. Pergamon Press, Oxford.

Zebe, E. (1975): *In vivo*-Untersuchungen über den Glucose-Abbau bei *Arenicola marina* (Annelida, Polychaeta). J. comp. Physiol. 101, 133-145.

Zebe, E. (1977): Anaerober Stoffwechsel bei wirbellosen Tieren. Rheinisch-Westf. Akademie der Wissensch. Vorträge N 269, 51-73.

Zebe, E., M. Grieshaber, U. Schöttler (1980): Biotopbedingte und funktionsbedingte Anaerobiose. Der Energiestoffwechsel wirbelloser Tiere bei Sauerstoffmangel. Biologie in unserer Zeit 10, 175-182.

Zebe, E., U. Salge, C. Wiemann, H. Wilps (1981): The energy metabolism of the leech *Hirudo medicinalis* in anoxia and muscular work. J. exp. Zool. 218, 157-163.

Zilva, J.F. (1978): The origin of the acidosis in hyperlactataemia. Ann. clin. Biochem. 15, 40-43.

Zoeten, L.W. de, J. Tipker (1969): Intermediary metabolism of the liver fluke *Fasciola hepatica* II. Hydrogen transport and phosphorylation. Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 350, 691-695.

Zs.-Nagy, I. (1974): Some quantitative aspects of oxygen consumption and anaerobic metabolism of molluscan tissues - A review. Comp. Biochem. Physiol. 49A, 399-405.

Zs.-Nagy, I. (1977): Cytosomes (yellow pigment granules) of molluscs as cell organelles of anoxic energy production. Int. Rev. Cytol. 49, 331-377.

Zs.-Nagy, I., M. Ermini (1972): ATP production in the tissues of the bivalve *Mytilus galloprovincialis* (Pelecypoda) under normal and anoxic conditions. Comp. Biochem. Physiol. 43B, 593-600.

Zuckerkandl, E. (1950): Coelomic pressures in *Sipunculus nudus*. Biol. Bull. mar. biol. Lab. Woods Hole 98, 161-173.

Zurburg, W., A.M.T. de Bont, A. de Zwaan (1982): Recovery from exposure to air and the occurence of strombine in different organs of the sea mussel *Mytilus edulis* L. Mol. Physiol. 2, 135-147.

Zurburg, W., R.H.M. Ebberink (1981): The anaerobic energy demand of *Mytilus edulis*. Organ specific differences in ATP-supplying processes and metabolic routes. Mol. Physiol. 1, 153-164.

Zurburg, W., J.H. Kluytmans (1980): Organ specific changes in energy metabolism due to anaerobiosis in the sea mussel *Mytilus edulis* (L.). Comp. Biochem. Physiol. 67B, 317-322.

Zwaan, A. de (1977): Anaerobic energy metabolism in bivalve molluscs. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 15, 103-187.

Zwaan, A. de, B.L. Bayne, A.M.Th. de Bont, J.M. Shick (1981a): Estimation of anoxic metabolic rates of sea mussels by direct calorimetry and biochemical analysis. Abstracts 3rd Congress of Europ. Soc. Comp. Physiol. Biochem., S. 138-139. Pergamon Press. Oxford.

Zwaan, A. de, A.M.Th. de Bont (1975): Phosphoenolpyruvate carboxykinase from adductor muscle tissue of the sea mussel *Mytilus edulis* L. J. comp. Physiol. 96, 85-94.

Zwaan, A. de, A.M.Th. de Bont, J. Hemelraad (1982): The occurrence of a PEP-branchpoint in the adductor muscle of bivalve molluscs? The sea mussel as a test case. Im Druck.

Zwaan, A. de, D.A. Holwerda (1972): The effect of phosphoenolpyruvate, fructose 1,6-diphosphate and pH on allosteric pyruvate kinase in muscle tissue of the bivalve *Mytilus edulis* L. Biochim. biophys. Acta 276, 430-433.

Zwaan, A. de, D.A. Holwerda, P.R. Veenhof (1981b): Anaerobic malate metabolism in mitochondria of the sea mussel *Mytilus edulis* L. Mar. Biol. Lett. 2, 131-140.

Zwaan, A. de, M. Leopold, E. Marteyn, D.R. Livingstone (1981c): Phylogenetic distribution of pyruvate oxidoreductases, arginine kinase, and aminotransferases. Abstracts 3rd Congress of Europ. Soc. Comp. Physiol. Biochem., S. 136-137. Pergamon Press, Oxford.

Zwaan, A. de, W.J.A. van Marrewijk (1973a): Anaerobic glucose degradation in the sea mussel *Mytilus edulis* L. Comp. Biochem. Physiol. 44B, 429-439.

Zwaan, A. de, W.J.A. van Marrewijk (1973b): Intracellular localization of pyruvate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxykinase and "malic enzyme" and the absence of glyoxylate cycle enzymes in the sea mussel (*Mytilus edulis* L.). Comp. Biochem. Physiol. 44B, 1057-1066.

Zwaan, A. de, R.J. Thompson, D.R. Livingstone (1980): Physiological and biochemical aspects of the valve snap and valve closure responses in the giant scallop *Placopecten magellanicus*. II. Biochemistry. J. comp. Physiol. 137, 105-114.

Zwaan, A. de, T.C.M. Wijsman (1976): Anaerobic metabolism in Bivalvia (Mollusca). Comp. Biochem. Physiol. 54B, 313-324.

Zwaan, A. de, W. Zurburg (1981): The formation of strombine in the adductor muscle of the sea mussel *Mytilus edulis* L. Mar. Biol. Lett. 2, 179-192.